

INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICH NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE  
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation <sup>6</sup> :	A2	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 99/61881
G01N 1/00		(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 2. Dezember 1999 (02.12.99)

(21) Internationales Aktenzeichen:	PCT/EP99/03667	(81) Bestimmungsstaaten: JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).
(22) Internationales Anmelddatum:	27. Mai 1999 (27.05.99)	
(30) Prioritätsdaten:	198 23 719.7 27. Mai 1998 (27.05.98)	DE
(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US):	MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTEN E.V. [DE/DE]; Hofgartenstrasse 8, D-80539 München (DE).	
(72) Erfinder; und		
(75) Erfinder/Anmelder (nur für US):	KALKUM, Markus [DE/DE]; Körtestrasse 19, D-10967 Berlin (DE). MÜLLER, Martin [DE/DE]; Grünfinkenweg 14, D-12526 Berlin (DE). NORDHOFF, Eckhard [DE/DE]; Tillmannsweg 5, D-14109 Berlin (DE). REINHARDT, Richard [DE/DE]; Brümmerstrasse 74, D-14195 Berlin (DE). EICKHOFF, Holger [DE/DE]; Lützelsteiner Weg 50, D-14195 Berlin (DE). RAUTH, Holger [DE/DE]; Schulzestrasse 35, D-13187 Berlin (DE).	
(74) Anwalt:	HERTZ, Oliver; V. Bezold & Sozien, Briener Strasse 52, D-80333 München (DE).	

(54) Title: METHOD AND DEVICE FOR PROCESSING EXTREMELY SMALL SUBSTANCE QUANTITIES

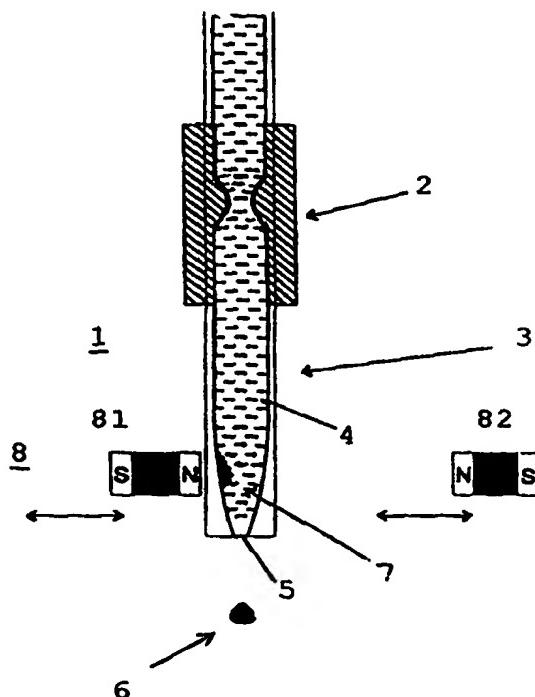
(54) Bezeichnung: VERFAHREN UND VORRICHTUNG ZUM PROZESSIEREN VON KLEINSTSUBSTANZMENGEN

## (57) Abstract

To process substances in the reservoir (3) of a microdroplet dosing device (1), a fixed support material having a binding-active surface is moved in the reservoir and the substance is bound to the surface of the support material which comprises magnetic particles (7) or a support bale.

## (57) Zusammenfassung

Zum Prozessieren von Substanzen im Reservoir (3) einer Mikrotropfen-Dosiereinrichtung (1), erfolgt eine Bewegung eines festen Trägermaterials mit einer bindungsaktiven Oberfläche im Reservoir, und eine Bindung der Substanz auf der Oberfläche des Trägermaterials, das magnetische Partikel (7) oder einen Trägerballen umfasst.



#### ***LEDIGLICH ZUR INFORMATION***

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

<b>AL</b>	Albanien	<b>ES</b>	Spanien	<b>LS</b>	Lesotho	<b>SI</b>	Slowenien
<b>AM</b>	Armenien	<b>FI</b>	Finnland	<b>LT</b>	Litauen	<b>SK</b>	Slowakei
<b>AT</b>	Österreich	<b>FR</b>	Frankreich	<b>LU</b>	Luxemburg	<b>SN</b>	Senegal
<b>AU</b>	Australien	<b>GA</b>	Gabun	<b>LV</b>	Lettland	<b>SZ</b>	Swasiland
<b>AZ</b>	Aserbaidschan	<b>GB</b>	Vereinigtes Königreich	<b>MC</b>	Monaco	<b>TD</b>	Tschad
<b>BA</b>	Bosnien-Herzegowina	<b>GE</b>	Georgien	<b>MD</b>	Republik Moldau	<b>TG</b>	Togo
<b>BB</b>	Barbados	<b>GH</b>	Ghana	<b>MG</b>	Madagaskar	<b>TJ</b>	Tadschikistan
<b>BE</b>	Belgien	<b>GN</b>	Guinea	<b>MK</b>	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	<b>TM</b>	Turkmenistan
<b>BF</b>	Burkina Faso	<b>GR</b>	Griechenland	<b>ML</b>	Mali	<b>TR</b>	Türkei
<b>BG</b>	Bulgarien	<b>HU</b>	Ungarn	<b>MN</b>	Mongolei	<b>TT</b>	Trinidad und Tobago
<b>BJ</b>	Benin	<b>IE</b>	Irland	<b>MR</b>	Mauretanien	<b>UA</b>	Ukraine
<b>BR</b>	Brasiliens	<b>IL</b>	Israel	<b>MW</b>	Malawi	<b>UG</b>	Uganda
<b>BY</b>	Belarus	<b>IS</b>	Island	<b>MX</b>	Mexiko	<b>US</b>	Vereinigte Staaten von Amerika
<b>CA</b>	Kanada	<b>IT</b>	Italien	<b>NE</b>	Niger	<b>UZ</b>	Usbekistan
<b>CF</b>	Zentralafrikanische Republik	<b>JP</b>	Japan	<b>NL</b>	Niederlande	<b>VN</b>	Vietnam
<b>CG</b>	Kongo	<b>KE</b>	Kenia	<b>NO</b>	Norwegen	<b>YU</b>	Jugoslawien
<b>CH</b>	Schweiz	<b>KG</b>	Kirgisistan	<b>NZ</b>	Neuseeland	<b>ZW</b>	Zimbabwe
<b>CI</b>	Côte d'Ivoire	<b>KP</b>	Demokratische Volksrepublik Korea	<b>PL</b>	Polen		
<b>CM</b>	Kamerun	<b>KR</b>	Republik Korea	<b>PT</b>	Portugal		
<b>CN</b>	China	<b>KZ</b>	Kasachstan	<b>RO</b>	Rumänien		
<b>CU</b>	Kuba	<b>LC</b>	St. Lucia	<b>RU</b>	Russische Föderation		
<b>CZ</b>	Tschechische Republik	<b>LI</b>	Liechtenstein	<b>SD</b>	Sudan		
<b>DE</b>	Deutschland	<b>LK</b>	Sri Lanka	<b>SE</b>	Schweden		
<b>DK</b>	Dänemark	<b>LR</b>	Liberia	<b>SG</b>	Singapur		
<b>EE</b>	Estland						

Verfahren und Vorrichtung zum Prozessieren  
von Kleinstsubstanzmengen

Die Erfundung betrifft Verfahren zum Prozessieren von Kleinstsubstanzmengen im Reservoir einer Fluid-Dosiereinrichtung, insbesondere ein Verfahren zum Sammeln, Reinigen und/oder Aufkonzentrieren von Substanzproben in kapillarförmigen Behältern, z.B. in Mikropipetten oder Mikrodispensern, und Vorrichtungen zur Realisierung der Verfahren.

Im Bereich der Biochemie, Gentechnik und Medizin werden kleinste Probenmengen gewonnen, nachgewiesen, analysiert, be- oder verarbeitet. Dabei besteht häufig die Aufgabe, die in einer Flüssigkeit gelösten oder suspendierten Proben zwischen makroskopischen Behältnissen wie z.B. Mikrotiterplatten ( $\mu$ l-Volumina) und miniaturisierten Trägern wie z.B. Membranen, Filtern, MALDI-MS-Targets, Silizium-Wafern oder Nanotiterplatten (nl-Volumina) zu transferieren. Als Werkzeuge zur Übertragung geringster Substanzmengen (Untergrenze rd. 1/10 nl) sind sogenannte "Pin-Tools", bei denen die zu transferierenden Proben an Nadelspitzen anhaften, oder Mikropipetten oder Mikrodispenser bekannt, bei denen analog zur Tintenstrahldrucktechnik kleinste Tropfen mit der inkorporierten Probe auf dem jeweiligen Ziel-Substrat plaziert werden. Bei der Übertragung an der Schnittstelle zwischen makroskopischen Behältnissen und miniaturisierten Trägern besteht generell das Problem, daß durch die Verwendung eines Teils der im makroskopischen Behältnis vorliegenden Probenmenge nach der Übertragung auf den miniaturisierten Träger zu wenig Substanz vorhanden ist, um einen zuverlässigen Analyse- oder Bearbeitungsvorgang anzuschließen. Daher besteht ein Interesse daran, Substanzmengen in kleinen Volumina ( $\mu$ l-Bereich) aufzukonzentrieren, zu sammeln und/oder zu reinigen.

Beim Nachweis der interessierenden Substanzen erreichen massenspektrometrische Verfahren heute Nachweisempfindlichkeiten im Attomol- bis unteren Femtomol-Bereich. Diese Empfindlichkeit kann in der Praxis effektiv nur dann genutzt werden, wenn der Analyt in möglichst reiner Form in einem nur wenige Nanoliter umfassenden Volumen vorliegt. Auch hierfür besteht ein Interesse an einer Aufreinigung oder Anreicherung von Substanzproben.

Aus der chemischen und biochemischen Analytik ist allgemein bekannt, zur Probenanreicherung in die jeweilige Lösung oder Suspension Festphasen einzubringen, an denen die gewünschten Moleküle vorübergehend gebunden werden. Bei geeigneten magnetischen Materialeigenschaften können die Festphasen unter Wirkung magnetischer Feldkräfte manipuliert werden (magnetische Aufreinigung).

Aus US-A-5 186 872 ist eine magnetische Trenneinrichtung zur Trennung magnetischer Teilchen von einem nicht-magnetischen Testmedium bekannt. Die magnetischen Teilchen sind kleine Partikel, auf deren Oberflächen die interessierenden Substanzen gebunden sind, oder beispielsweise biologische Zellen, in die magnetische Substanzen inkorporiert sind. Mit einer Vielzahl von Magneten wird im Testmedium ein magnetischer Feldgradient derart aufgebaut, daß die magnetischen Teilchen an die Gefäßwandung bewegt und dort gesammelt werden. Die aus US-A-5 186 872 bekannte magnetische Trenneinrichtung besitzt die folgenden Nachteile.

Die Trenneinrichtung besitzt einen komplexen Aufbau. Zur Ausbildung der Feldgradienten müssen mindestens vier Magneten vorhanden sein, die in vorbestimmter Weise angeordnet sind und die Verwendung bestimmter Behältnisse für das Testmedium erfordern. Die für charakteristische Behältnis-Dimensionen im

cm-Bereich konzipierte herkömmliche Trenneinrichtung erlaubt, insbesondere beim Einsatz von Elektromagneten, keine Miniaturisierung. Damit ist ein Einsatz an der oben genannten Schnittstelle zwischen makroskopischen Behältnissen und Miniatürägern bei den verwendeten Werkzeugen ausgeschlossen. Schließlich ist die herkömmliche Trenneinrichtung auf den reinen Trennvorgang beschränkt. Die Beladung magnetischer Teilchen mit den interessierenden Substanzen in der Trenneinrichtung ist nicht vorgesehen.

Aus US-A-5 498 550 ist ein Probensammler bekannt, bei dem Komplexe aus Proteinproben und magnetisch markierten Antikörpern unter der Wirkung eines externen Magnetfeldes in einem Reaktor manipuliert werden. Dieser Probensammler ist jedoch nicht für die Handhabung von Substanzmengen mit Volumina im nl- bis  $\mu$ l-Bereich geeignet. Ein weiterer Nachteil besteht in der Einschränkung auf bestimmte Substanzen, die die jeweilige Antigen-Antikörper-Reaktion zur Komplexbildung eingehen. Des Weiteren ist aus WO 97/44671 und JP 08/062224 (in: Patent Abstracts of Japan, 1996) ein System zur Steuerung magnetischer Partikel in Pipettieranordnungen bekannt. Die magnetischen Partikel befinden sich suspendiert in einer pipettenförmigen Küvette und können mit einem äußeren Permanentmagneten an den Küvettenrand gezogen werden. Bei Entfernung des Permanentmagneten werden die Partikel freigegeben und können dadurch zum unten offenen Ende der Küvette sinken. Auch dieses System ist auf die Manipulierung größerer Probenvolumina im ml-Bereich beschränkt. Des Weiteren besteht ein Nachteil dahingehend, daß die Partikelsteuerung lediglich die Bindung oder Freigabe, jedoch nicht eine gezielte Bewegung der Partikel in der Küvette umfaßt. Eine magnetische Trenneinrichtung wird in WO 96/09550 (bzw. US-A-5 567 326) beschrieben, in der magnetisierbare Partikel aus einem nicht-magnetischen Testmedium extrahiert werden. Das Testmedium ist in einer Küvettenanordnung untergebracht, bei der jede Küvette zum Ein-

tauchen eines stiftförmigen Permanentmagneten eingerichtet ist. Der Nachteil dieser Technik besteht darin, daß die Küvetten kein Dispersieren des Testmediums erlauben und damit das Testmedium nur schwer handhabbar ist.

Weitere Systeme zur Manipulierung magnetischer oder magnetisierbarer Partikel sind aus WO 86/06493, WO 89/01161, US-A-5 147 529 und US-A-3 985 649 bekannt. All diese Systeme erlauben jedoch keine Medienabgabe nach Art eines Dispensers. Diese Dispensierfunktion ist jedoch gerade in Zusammenhang mit den eingangs genannten Aufgaben in der Biochemie, Gentechnik und Medizin von entscheidender Bedeutung.

Gegenwärtig ist keine Aufreinigungs- oder Anreicherungstechnik bekannt, die zur Prozessierung (z. B. Handhabung, Sammlung, Reinigung oder dergl.) kleinster Substanzmengen (bis zum nl-Bereich und darunter) einsetzbar ist.

Es ist die Aufgabe der Erfindung, ein Verfahren zum Prozessieren kleinsten Substanzmengen anzugeben, das insbesondere mit dem Einsatz herkömmlicher Werkzeuge zur Probenhandhabung im nl-Bereich kompatibel ist und einen möglichst breiten Einsatzbereich besitzt. Das Verfahren soll einfach in die üblichen Methoden zur Probenhandhabung, zum Probennachweis und zur Probenbearbeitung aus der Biochemie, Gentechnik und Medizin integrierbar sein. Die Aufgabe der Erfindung besteht auch darin, eine Vorrichtung zur Implementierung eines derartigen Verfahrens anzugeben.

Die Aufgabe der Erfindung wird durch ein Verfahren oder Vorrichtungen gemäß den Patentansprüchen 1 bzw. 11 gelöst. Bevorzugte Ausführungsformen der Erfindung ergeben sich aus den abhängigen Ansprüchen.

Das erfindungsgemäße Verfahren zur Sammlung von Substanzproben basiert auf der Anordnung und Bewegung einer Festphase (Trägermaterial) unmittelbar im Reservoir einer Mikrodosiereinrichtung, wobei die interessierende Substanz auf der Oberfläche des Trägermaterials gebunden und für eine vorbestimmte Folge von Arbeitsschritten im Reservoir gehalten wird. Das Reservoir besitzt ein charakteristisches Volumen, das allgemein kleiner als 500 µl ist und vorzugsweise weniger als 10 µl, insbesondere weniger als 2 µl, bis zu 1 nl, beträgt. Die Dosiereinrichtung ist zur Mikrotropfenabgabe im Sub-nl-Bereich ausgelegt. Das Trägermaterial kann durch magnetische Partikel, die durch eine äußere magnetische Feldkraft bewegt werden, oder durch einen porösen Trägerballen gebildet werden, der durch eine äußere mechanische Betätigung bewegt wird. Das Trägermaterial besteht aus einem an sich inkompressiblen und harten Material. Dies bedeutet, daß das Trägermaterial bei Betätigung der Dosiereinrichtung, z.B. durch Anlegen eines Druckpulses, keine Formänderung eingeht.

Die Bindung zwischen der oder den interessierenden Substanzen und der Oberfläche des Trägermaterials erfolgt über die Ausbildung von van-der-Vaals-Kräften aufgrund von hydrophoben Wechselwirkungen. Dies bedeutet, daß die Bindung mit einer relativ geringen Spezifität hinsichtlich des einzelnen Stoffes erfolgt und damit die Erfindung mit ganzen Substanzklassen in Stoffgemischen (z.B. Gemische von Peptiden, Proteine, DNA oder Oligonukleotide) realisiert werden kann.

Mit dem Begriff "Reservoir" der Dosiereinrichtung wird hier das aktive Dosievolumen oder Hubvolumen oder - bei Implementierung mit entsprechenden Einrichtungen - das Pipettenvolumen oder das Dispenservolumen bezeichnet. Die Dosiereinrichtung kann durch jede geeignete Pump- oder Dosiereinrichtung gebildet werden, die zur Abgabe vorbestimmter Fluidmengen vom Reservoir auf ein Zielsubstrat eingerichtet ist. Die Erfindung

wird vorzugsweise mit Dosiereinrichtungen für kleinste Substanzmengen (Nanoliter und Sub-Nanoliter) realisiert. Hierzu zählen beispielsweise Mikropipetten oder Mikrodispenser oder Mikropumpen (insbesondere mit pneumatischem oder elektrischem Antrieb) oder andere Mikrotropfenschußeinrichtungen, die analog zu den Tintenstrahltechniken funktionieren.

Zur Prozessierung kleinstter Substanzmengen wird das Trägermaterial vorzugsweise in unmittelbarer Nähe einer Austrittsöffnung des Reservoirs der Dosiereinrichtung angeordnet bzw. bewegt. Dies bedeutet beispielsweise eine Manipulierung des Trägermaterials an oder nahe der Spitze einer Dosierkapillare z.B. eines Mikrodispensers. Ein besonderer Vorteil der Erfindung besteht in deren Kompatibilität mit beliebigen, herkömmlichen Dosiereinrichtungen. Es wurde erstmalig festgestellt, daß eine Probensammlung nach dem Prinzip der an sich bekannten Festphasen-Aufreinigung in Dosiereinrichtungen möglich ist, ohne deren Funktion zu beeinträchtigen. Dies betrifft insbesondere die Implementierung der Erfindung in Mikrodosiereinrichtungen mit nl-Volumina.

Eine erfindungsgemäße Vorrichtung zeichnet sich dadurch aus, daß im Reservoir einer Fluid-Dosiereinrichtung ein Trägermittel als Festphase mit bindungsaktiver Oberfläche angeordnet und mit einer äußeren Antriebseinrichtung manipulierbar ist. Vorzugsweise werden eine Vielzahl von Fluid-Dosiereinrichtungen parallel betrieben, wobei nur eine gemeinsame Antriebseinrichtung zur Manipulierung der Festphasen vorgesehen ist.

Die Erfindung besitzt den Vorteil, daß erstmalig das Problem der miniaturisierten Proben-Aufreinigung oder -Sammlung gelöst wird. Die Erfindung ist einfach mit verfügbaren Mikropipetten oder Mikrodispensern, insbesondere bei deren einzelnen oder

seriellem Einsatz, ohne Störung herkömmlicher Verfahrensabläufe realisierbar. Es ist erstmalig gelungen, in Mikrodispensern Probensubstanzen an einem Trägermaterial zu binden und mit diesem im Mikrodispenser zu bewegen, ohne die Funktion des Mikrodispensers einzuschränken. Dies stellt einen unerwarteten und wesentlichen Erfolg dar, da normalerweise z.B. piezoelektrische Mikrodispenser einen Funktionsausfall zeigen, wenn sich in ihrem Inneren ein kompressibler Bestandteil, z.B. auf der Basis von Partikeln, suspendierten Flüssigkeiten oder Gaseinschlüssen, befindet. Es hat sich gezeigt, daß bei Verwendung von magnetischen Partikeln als Trägermaterial, die einen charakteristische Größe im Bereich von 200 nm bis 1 µm besitzen, in vorteilhafter Weise eine Doppelfunktion erfüllt wird. Einerseits besitzen sie eine sehr große affine Oberfläche zur Bindung der Probensubstanzen. Andererseits wird durch die kleinen Partikel der Dispensiervorgang nicht gestört, wobei insbesondere auch ein Verstopfen der Austrittsdüse ausgeschlossen wird. Die Erfindung erlaubt sowohl die Bindung der interessierenden Substanzen am Trägermaterial als auch dessen Manipulierung innerhalb eines Behältnisses des Reservoirs ohne Zusatzschritte. Diese Manipulierung umfaßt insbesondere eine Elution der am Trägermaterial phasengebundenen Substanzen.

Ein besonderer Vorteil der Erfindung betrifft den Einsatz bei Mikropipetten oder Mikrodispensern. Für das reproduzierbare, genaue Dispensieren kleinstter Flüssigkeitsmengen müssen nämlich die geometrischen Eigenschaften der Dispenserspitze sowie die elektrischen Piezoparameter optimal aufeinander abgestimmt sein. Die Erfindung ermöglicht es, daß das für eine vorübergehende Anbindung der Moleküle erforderliche feste Trägermaterial den Dispensiervorgang nicht stört, d.h. weder die Gefäßdimensionen noch die durch die Flüssigkeit laufende Druckwelle effektiv beeinflußt werden.

Weitere Vorteile und Einzelheiten der Erfindung werden im folgenden unter Bezug auf die beiliegenden Zeichnungen beschrieben:

Fig. 1: eine schematische Illustration einer ersten Ausführungsform der Erfindung, bei der ein magnetisches Trägermaterial in einer Dosiereinrichtung verwendet wird,

Fig. 2: eine schematische Illustration einer zweiten Ausführungsform der Erfindung bei der ein poröser Trägerballen in einer Dosiereinrichtung verwendet wird,

Fig. 3: eine schematische Draufsicht auf eine erfindungsgemäße Vorrichtung mit einer Reihe von Mikrodispensern, die jeweils zur Realisierung des erfindungsgemäßen Verfahrens eingerichtet sind, und

Fig. 4: eine schematische Seitenansicht der Vorrichtung gemäß Fig. 3.

Die Erfindung wird vorzugsweise mit Dosiereinrichtungen realisiert, die für eine Abgabe von Flüssigkeitsmengen im nl- bis pl-Bereich eingerichtet sind. Dies bedeutet, daß die Dosiereinrichtung jeweils ein Dosier-Reservoir im 1/10 nl- bis  $\mu$ l-Bereich besitzt, aus dem, vorzugsweise bei Druckbetätigung, Tröpfen oder Portionen mit Volumina unterhalb 100 pl abgegeben werden können. Ein Beispiel für eine derartige Dosiereinrichtung ist ein Mikrodispenser, wie er im folgenden unter Bezug auf die Fign. 1 und 2 erläutert wird.

Fig. 1 zeigt beispielhaft das Ende eines piezoelektrischen Mikrodispensers, der zur Implementierung des erfindungsgemäßen Verfahrens gemäß einer ersten Ausführungsform der Erfindung (magnetische Manipulierung des festen Trägermaterials) einge-

richtet ist. Der piezoelektrische Dispenser 1 umfaßt einen elektrischen Wandler 2 und ein Dosier-Reservoir 3, das durch eine Kapillare gebildet wird. Der Wandler 2 ist zur pulsförmigen Verringerung des Volumens des Dosier-Reservoirs 3 eingerichtet. Bei Betätigung des Wandlers 2 für eine Pulszeit (typischerweise rd. 40 µs) läuft eine Druckwelle durch die Flüssigkeit 4 im Dosier-Reservoir 3. Dies bewirkt einen Flüssigkeitsausstoß am Auslaß 5 (Durchmesser rd. 50 µm) des Dosier-Reservoirs 3, der hier durch das Ende der Kapillare gebildet wird (Dispenserspitze). Wenn die Druckwelle in der Flüssigkeit 4 die am Auslaß 5 auftretenden Rückhaltekräfte (Kapillarkräfte und Oberflächenspannung) überwindet, so kommt es zur Abgabe eines Tropfens 6.

Die Flüssigkeit 4 umfaßt beispielsweise eine Lösung oder Suspension von Probenmolekülen, die bei biochemischen Anwendungen Peptide, Proteine, Nukleinsäuren bzw. DNA-Moleküle, Fette oder Kohlenhydrate umfassen. Um die Probenmoleküle (Substanzprobe) im Dosier-Reservoir 3 erfindungsgemäß aufzukonzentrieren oder aufzureinigen, ist im Dosier-Reservoir 3, vorzugsweise in der Nähe des Auslaß 5, eine Vielzahl magnetischer Partikel 7 angeordnet, die mit einer Antriebseinrichtung zur Halterung und/oder Bewegung der magnetischen Partikel 7 in Form einer Magneteinrichtung 8 manipulierbar sind. Die Magneteinrichtung 8 umfaßt zwei Permanentmagneten 81, 82 mit jeweils veränderlichem Abstand in Bezug auf das Dosier-Reservoir 3 mit den magnetischen Partikeln. Beide Permanentmagneten 81, 82 weisen mit dem gleichen Pol hin zum Reservoir 3. Weitere Einzelheiten der Magneteinrichtung 8 und einer zugehörigen (hier nicht dargestellten) Antriebseinrichtung werden unten unter Bezug auf die Figuren 3 und 4 erläutert.

Die magnetischen Partikel 7 besitzen einen Durchmesser, der etwa ein bis zwei Zehnerpotenzen kleiner als der Durchmesser der Dispenserdüse (Auslaß 5) ist und vorzugsweise im Bereich

von 0,25 bis 2 µm liegt. Damit wird erreicht, daß die Partikel 7 problemlos als Suspension in den Dispenser 1 eingesaugt und im Dosier-Reservoir 3 deponiert bzw. bewegt werden können. Dies ist sogar in der Nähe des Auslaß 5 möglich, da die magnetische Feldeinwirkung der Magneteinrichtung 8 vorteilhafterweise verhindert, daß Partikel 7 unerwünscht an den Auslaß 5 bzw. aus diesem hinaus gelangen. Ein weiterer Vorteil der angegebenen Partikelgröße besteht darin, daß die deponierten Partikel 7, d.h. die unter der magnetischen Feldkraft an der Dispenserinnenwand haftenden Partikel, aufgrund ihrer geringen Raumausdehnung den piezoelektrischen Dispenservorgang nicht behindern.

Als magnetische Partikel 7 werden vorzugsweise kommerziell verfügbare Substanzen mit einer genügenden Magnetisierbarkeit und mit einer möglichst großen aktiven Partikeloberfläche verwendet. Die Partikel 7 besitzen eine Affinität für die Probenmoleküle, so daß diese aus der Flüssigkeit 4 heraus im Inneren der Dispenserspitze an die Partikel gebunden werden.

Erfnungsgemäß können die magnetischen Partikel 7 durch Veränderung der magnetischen Feldkräfte in vorbestimmter Weise im Dosier-Reservoir 3 bewegt werden. Die Veränderung der magnetischen Feldkräfte erfolgt durch eine Bewegung des Mikrodispensers 1 und der Magneteinrichtung 8 relativ zueinander, wobei vorzugsweise die Permanentmagneten 81, 82 in Bezug auf die ortsfeste Dispenserspitze bewegt werden. So ist es beispielsweise möglich, durch simultane Entfernung des Magneten 81 und Annäherung des Magneten 82 von der entgegengesetzten Dispenserseite her, die Partikel mit der Probenbeladung durch die Flüssigkeit 4 von einer Wandung des Dosier-Reservoirs 3 zur entgegengesetzten Wandung zu bewegen. Die Partikel 7, die das feste Trägermaterial (Festphase) bilden, werden durch die Flüssigkeit 4 bewegt, von dieser umströmt und mit ihr vermischt, so daß weitere Probenmoleküle gebunden werden, während

andere Lösungsbestandteile in der Flüssigkeit 4 verbleiben. Durch wiederholtes Bewegen der Partikel 7 durch die Flüssigkeit 4 können in ausreichender Menge die interessierenden Probenmoleküle gesammelt werden (Anreicherung). Das gezielte Bewegen der Partikel mit den gebundenen Probensubstanzen durch die Flüssigkeit stellt einen wesentlichen und durch herkömmliche Dispensiersysteme mit großen Flüssigkeitsvolumina nicht erzielbaren Vorteil der Erfindung dar. Erfindungsgemäß sind für die Partikel nicht nur statisch gebundene oder freigegebene Zustände maßgeblich, sondern auch dynamisch gebundene Zustände, in denen das gezielte Bewegen durch die Flüssigkeit erfolgt. Weitere Prozessierungsschritte werden weiter unten erläutert.

Die Permanentmagneten 81, 82 sind vorzugsweise NdFeB-Magneten mit einer anwendungsabhängig gewählten Remanenz. Beim Einsatz mit Mikrodispensern beträgt die Remanenz vorzugsweise rd. 1 Tesla bis 1,5 Tesla.

Fig. 2 zeigt eine zweite Ausführungsform der Erfindung wiederum am Beispiel eines Mikrodispensers 1 mit einem piezoelektrischen Wandler 2 und einem Dosier-Reservoir 3, von dessen Auslaß 5 bei Betätigung des Wandlers 2 ein Mikrotropfen 6 abgegeben werden kann. Als Trägermaterial ist erfindungsgemäß ein Trägerballen 9 vorgesehen, der mit einer Antriebseinrichtung zur Halterung und/oder Bewegung des Ballens 9 in Form eines faden- oder stabförmigen Betätigungselements 91, das durch das Dosier-Reservoir 3 des Dispensers 1 beweglich ist (Pfeilrichtung). Der Trägerballen 9 ist eine zusammenhängende, schwammartige feste Phase, die eine möglichst große aktive Oberfläche besitzt. Das vorzugsweise poröse, an sich jedoch inkompressible Material des Trägerballens 9 besteht beispielsweise aus Nitrocellulose oder einem Säulenfüllmaterial, wie es bei HPLC-Trennungen verwendet wird (z.B. Material "Poros" (registrierte Marke)).

Anstelle der Probensammlung mit den bewegten, magnetischen Partikeln (erste Ausführungsform) wird bei der zweiten Ausführungsform ein mechanisches Wirkprinzip realisiert. Der Trägerballen 9 wird mit dem Betätigungsselement 91 durch den Innenraum des Dosier-Reservoir 3 bewegt, um Probenmoleküle aufzusammeln. Der Trägerballen 9 ist von der Flüssigkeit 4 im Mikrodispenser 4 durchströmbar, so daß eine unerwünschte Flüssigkeitsabgabe vermieden wird. Nach dem Anreicherungsvorgang, wenn die aufkonzentrierten Analytmoleküle funktionsgemäß vom Mikrodispenser 1 auf ein bestimmtes Substrat abgegeben werden sollen, wird der Trägerballen 9 durch die Dispenserspitze nach oben durch den Wandler 2 hindurchgezogen.

Zur Verwendung für die erfindungsgemäße Prozessierung von kleinsten Substanzmengen wird eine Dosiereinrichtung durch Aufnahme des festen Trägermaterials in das Reservoir der Dosiereinrichtung vorbereitet. Bei der ersten Ausführungsform erfolgt eine Aufnahme und Deponierung der magnetischen Partikel im Reservoir (z.B. im Dosier-Reservoir des Mikrodispensers), in dem eine Partikelsuspension entweder durch den Auslaß des Reservoirs oder durch eine zusätzliche Versorgungsleitung unter gleichzeitiger Einwirkung der magnetischen Feldkräfte in das Reservoir gefüllt wird. Unter Wirkung der magnetischen Feldkräfte werden die Partikel sofort an eine Reservoirwandung gezogen und dort festgehalten (Deponierung). Bei der zweiten Ausführungsform umfaßt der Vorbereitungsschritt die Zuführung des Trägerballens in das Reservoir der Dosiereinrichtung und eine Fixierung des hierfür verwendeten Betätigungsselements derart, daß der Trägerballen im Reservoir nahe dessen Auslaß positioniert ist.

Nach dem Vorbereitungsschritt erfolgt die Aufnahme einer Lösung oder Dispensierung der interessierenden Substanzproben.

Diese Aufnahme erfolgt entsprechend durch einen Auslaß der Dosiereinrichtung oder durch eine zusätzliche Zuführleitung.

Beim folgenden Bindungsschritt werden die auf das jeweilige Trägermaterial wirkenden Kräfte derart verändert, daß sich das Trägermaterial durch die aufgenommene Lösung oder Suspension bewegt und dabei von dieser umspült wird, so daß sich eine Bindung der Substanz auf dem Trägermaterial ergibt. Bei der ersten Ausführungsform werden die magnetischen Feldkräfte derart verändert, daß sich die magnetischen Partikel vom ursprünglichen Deponierungsort zu einem anderen Teil der Reservoirwandung (z.B. gegenüberliegende Wandung) bewegen. Bei der zweiten Ausführungsform wird das Antriebselement (z.B. in Fig. 2, Bezugszeichen 91, derart bewegt, daß das Trägermaterial von der Lösung oder Suspension umspült wird. Die Bewegung des Trägermaterials durch die Flüssigkeit erfolgt vorzugsweise periodisch mit einer Vielzahl von Bewegungsabläufen. Die Geschwindigkeit und Dauer der Trägermaterialbewegung und somit des Bindungsschrittes werden anwendungsabhängig gewählt.

Nach Anbindung der interessierenden Substanz am Trägermaterial wird die Flüssigkeit aus dem Reservoir der Dosiereinrichtung durch den Auslaß oder durch eine vom entgegengesetzten (oberen) Ende wegführende Leitung abgegeben. Je nach Anwendungsfall kann nun eine weitere Lösung oder Suspension mit der interessierenden Substanz oder ohne eine Probensubstanz zugeführt werden. Im ersten Fall wird damit eine Anreicherung der Substanz im Reservoir erzielt. Das Aufkonzentrieren erfolgt zunächst im gebundenen Zustand an den Trägermaterialien. Nach wiederholter Zufuhr von Probenlösungen wird dann durch Aufnahme einer geeigneten Elutionslösung in das Reservoir die gebundene Substanz wieder in die Flüssigkeit oder Suspension abgegeben. Nach dem Ablösen der Substanz von den Partikeln oder vom Trägerballen besitzt die Elutionslösung eine höhere Konzentration als die ursprünglich zugeführte Lösung. Im zweiten

Fall kann vorgesehen sein, eine Reinigungslösung zuzuführen, mit der eine vorbestimmte Art von Substanzen, die beim vorherigen Bindungsschritt unbeabsichtigt an den Trägermaterialien angebunden wurden, wieder abgelöst werden. Dies entspricht einer Reinigung oder weiteren selektiven Substanzwahl. Anschließend erfolgt wiederum die Ablösung der Substanz von den Trägermaterialien mit einer geeigneten Elutionslösung.

Mit den vorher beschriebenen Prozessierungsschritten umfassend die Probenbindung und die Proben-Konzentration und/oder Reinigung, können bei geeigneter Wiederholung mit jeweils ausgewählten Substanzen auch mikropräparative und mikrosynthetische Zwecke verfolgt werden. So ist es beispielsweise möglich, zunächst einen ersten Reaktionspartner im Reservoir zu sammeln und/oder zu reinigen, um ihn dann mit einem entsprechend gesammelten und/oder gereinigten zweiten Reaktionspartner zur Reaktion zu bringen. Diese Reaktion kann im gebundenen Zustand auf dem Trägermaterial oder im gelösten oder suspendierten Zustand im Reservoir oder nach Dispensierung auf einem Substrat erfolgen.

Nach der Substanzfreigabe von den Trägermaterialien erfolgt die bestimmungsgemäße Dosierung mit der Dosiereinrichtung durch Abgabe der konzentrierten oder gereinigten Lösung auf ein Ziel-Substrat. Dies erfolgt beispielsweise bei dem beschriebenen Mikrodispenser durch die bestimmungsgemäße Tropfenabgabe durch den Auslaß.

Bei einer erfindungsgemäßen Probensubstanzbehandlung werden beispielsweise Peptide aus einem Volumen der Größenordnung 1 µl bis 2 µl an die Oberfläche magnetischer Partikel gebunden, anschließend mit rd. 10 µl Spülflüssigkeit gereinigt und daraufhin in wenigen 100 nl bis 10 nl eluiert. Von jedem Eluat werden mehrere Analysen mit anwendungsabhängig gewählten Substanzmengen angefertigt. Hierzu werden beispielsweise rd.

15  
0.1 nl bis 1.0 nl pro Analyse auf einen Probenträger dispen-  
siert.

Im folgenden wird eine weitere Ausführungsform der Erfindung mit einer Vielzahl von Dosiereinrichtungen, in denen jeweils Substanzen entsprechend den oben beschriebenen Prinzipien prozessiert werden können, unter Bezug auf die Figuren 3 und 4 beschrieben.

Die Figuren 3 und 4 zeigen schematisch eine Prozessierungsstation für die parallele Bearbeitung einer Vielzahl von Substanzen in Drauf- bzw. Seitenansicht. Die Prozessierungsstation umfaßt eine Dispensereinheit 10 mit einer Vielzahl von Mikrodispensern 1 (z.B. piezoelektrische Dispenser gem. Fig. 1), eine Magneteinheit 20 mit einer Vielzahl von Magneteinrichtungen 8 und eine Antriebseinheit 30, die zur Einstellung der Position bzw. zur Bewegung der Magneteinheit 20 in Bezug auf die Dispensereinheit 10 eingerichtet ist.

Die Mikrodispenser 1 der Dispensereinheit 10 sind als gerade Reihe angeordnet. Die Anzahl und Abstände der Mikrodispenser sind anwendungsabhängig von der Gestalt des jeweiligen makroskopischen Behältnisses gewählt, von dem Proben übernommen werden sollen. Die Anordnung der Mikrodispenser ist vorzugsweise an die Gestalt einer Mikrotiterplatte angepaßt. Bei der dargestellten Ausführungsform sind beispielsweise sechzehn Mikrodispenser 1 entsprechend einer Mikrotiterplatte mit sechzehn reihenweise angeordneten Volumina vorgesehen. Die Mikrodispenser 1 sind an einer (nicht dargestellten) Halterungs- und Stelleinrichtung angebracht.

Die Magneteinheit 20 umfaßt eine Vielzahl von Magneteinrichtungen 8, deren Anzahl mindestens gleich der Anzahl der Mikrodispenser 1 ist. Vorzugsweise wird jedoch an den Enden der

Reihe der Mikrodispenser 1 jeweils eine zusätzliche Magneteinheit zur Schaffung gleichförmiger Feldverhältnisse in den Mikrodispensern an den Enden der Reihe zu schaffen. Jede Magneteinrichtung 8 besteht aus zwei voneinander beabstandeten Permanentmagneten 81, 82, zwischen denen zur Substanzprozessierung jeweils ein Mikrodispenser angeordnet ist.

Die Permanentmagneten 81, 82 sind an den Längsseiten eines die Mikrodispenserreihe umgebenden, sich entsprechend der Dispensereihe länglich erstreckenden Rahmens 21 befestigt. Der Rahmen 21 ist mit der Antriebseinheit 30 in einer Richtung parallel zur Längerstreckung der Mikrodispenser 1 (Auf-/Ab-Bewegung) und in einer zu den Mikrodispensern 1 senkrecht ausgerichteten Bezugsebene (Vor-/Rück-Bewegung) beweglich. Die Längsseiten des Rahmens 21 besitzen einen derartigen Abstand, daß einem Mikrodispenser in einer Position unmittelbar benachbart zu einem der Permanentmagneten 81, 82 die magnetischen Partikel im wesentlichen ausschließlich Feldkräften dieses Permanentmagneten und vernachlässigbar geringen Feldkräften des gegenüberliegenden Permanentmagneten ausgesetzt sind. Außerdem wird der Abstand so gewählt, daß beim Positionswechsel der Mikrodispenser von einem zum gegenüberliegenden Permanentmagnet (Vor-/Rück-Bewegung) die Partikel unter der Wirkung der Schwerkraft dem jeweiligen Reservoir nicht so weit hin zum Auslaß absinken können, daß sie den Kraftwirkungsreich des jeweiligen Permanentmagneten verlassen. Damit wird sichergestellt, daß die Partikel den Auslaß nicht erreichen und dort keine Störungen durch Verstopfen oder dergl. verursachen können.

Der Abstand der Permanentmagnetreihen entlang der Längsseite des Rahmens 21 ist bei der Kombination mit Mikrodispensern kleiner als 1 cm und beträgt vorzugsweise rd. 6 mm bis 7,5 mm.

Die Antriebseinheit 30 umfaßt zwei Servomotoren 31, die über Schwenkhebel 32 mit den Enden des Rahmens 21 verbunden sind. Durch gleichzeitiges Betätigen der Servomotoren 31 ist der Rahmen 21 mit den Schwenkhebeln 32 von einer ersten Position, in der die Dispenserreihe nahe der einen Permanentmagnetenreihe (Permanentmagnete 81) angeordnet ist, in eine zweite Position verschwenkbar, in der die Dispenserreihe nahe der jeweils anderen Permanentmagnetenreihe (Permanentmagneten 82) angeordnet ist. Vorteilhafterweise werden sämtliche Dispenser und sämtliche Permanentmagneten simultan relativ zueinander bewegt. Die Servomotoren sind vorzugsweise zur Bereitstellung verschiedener Schwenkgeschwindigkeiten eingerichtet. Es sind beispielsweise drei Schwenkgeschwindigkeiten vorgesehen, bei denen jeweils unterschiedliche Partikelgeschwindigkeiten im Reservoir jedes Mikrodispensers erzielt werden. Bei den drei Schwenkgeschwindigkeiten benötigt der Positionswechsel von der ersten zur zweiten Position beispielsweise rd. eine viertel Sekunde, eine halbe Sekunde bzw. eineinhalb Sekunden.

Die Antriebseinheit 30 umfaßt ferner zwei Stelleinrichtungen 33, mit denen die Höhenposition der Magneteinrichtungen 8 in Bezug auf die Längsrichtung der Mikrodispenser einstellbar ist. Die Stelleinrichtungen 33 sind vorzugsweise Federaufhängungen mit vorbestimmten Einstellpositionen. Es ist vorzugsweise eine erste Position, in der die Prozessierung in den Mikrodispensern erfolgt, und eine zweite Position vorgesehen, in der die Dispenserenden unterhalb der Ebene des Rahmens 21 hervorragen, um beispielsweise zur Befüllung in ein Gefäß (z.B. in die Volumina einer Mikrotiterplatte) gefahren zu werden. Zur Umstellung von der Prozessierungsposition zur Befüllungsposition werden die Servomotoren 31 mit dem Rahmen 21 zur Freigabe der Dispenserspitzen nach oben gegen Rückholfedern der Stelleinrichtung 33 gedrückt und in der Befüllungsposition verankert. Nach der Befüllung wird die Verankerung freigegeben und die Rückholfedern drücken die Servomotoren 31 mit dem Rah-

men 21 zurück in die Prozessierungsposition. Die Antriebseinheit 30 besitzt ferner eine Motoraufhängung 34, deren Betätigung wiederum mit der Halterungs- und Stelleinrichtung der Dispenserreihe synchronisiert ist.

Bei der Realisierung der oben genannten zweiten Ausführungsform ist die Prozessierungsstation gemäß den Figuren 3 und 4 entsprechend anzupassen. Demnach sind die Trägerballen an einem gemeinsamen Träger reihenweise zu befestigen und mit angepaßten Betätigungsselementen in einer Richtung entsprechend der Längsrichtung der Mikrodispenser (Auf-/Ab-Bewegung) zu betätigen.

Die Betätigungsselemente besitzen insbesondere für jeden Trägerballen eine Draht- oder Faden-Aufhängung, mit der der Trägerballen vom Auslaß (oder der Düse) des Mikrodispensers bis zu einem oberen Dispenserbereich hochgezogen werden kann.

Oberhalb des piezoelektrischen Wandlers kann die Bewegung der Aufhängung magnetisch oder mechanisch erfolgen.

Die erfindungsgemäße Prozessierung geringster Substanzmengen in Mikrodispensern besitzt den Vorteil, daß nur geringe Mengen des Elutionsmittels benötigt werden, um die gebundenen Probenstoffe in der Dispenserspitze von der festen Phase zu eluieren. Als Elutionsmittel kommen beispielsweise 100 bis 300 nl eines Gemisches aus Acetonitril (80 Vol-%) mit Tri-fluoressigsäure (0.1 Vol-%) zum Einsatz. Die Aufnahme des Elutionsmittels erfolgt durch den Mikrodispenserauslaß (Düse), indem über eine Versorgungsleitung ein Unterdruck (z.B. rd. 10 mbar) am Mikrodispenser erzeugt wird. Über die Einstellung der Oberflächenkräfte bzw. der Kapillarkräfte wird das Elutionsmittel in den Mikrodispenser eingesogen.

Die Implementierung der Erfindung ist nicht auf die oben beschriebenen Ausführungsformen beschränkt. Es sind insbesondere die folgenden Modifikationen möglich. Es ist der Einsatz magnetisch und mechanisch betätigbarer Trägermaterialien simultan möglich. Es ist möglich, anstelle von zwei Permanentmagneten nur einen Permanentmagneten vorzusehen, dessen Position in Bezug auf den jeweiligen Mikrodispenser mit einer Verstelleinrichtung so geändert wird, daß die magnetischen Partikel ständig unter Feldeinfluß bleiben. Es können auch mehr als zwei Permanentmagneten pro Dispenser vorgesehen sein. Anstelle der beschriebenen Mikrodispenser oder Mikropipetten können auch andere Dosiereinrichtungen eingesetzt werden. Es können zusätzliche Mittel zur Formung des Magnetfeldes im Bereich der Reservoirs der Mikrodispenser vorgesehen sein. Anstelle der Permanentmagneten können Elektromagneten oder Magneten auf der Basis von Mikrosupraleitern eingesetzt werden, falls genügend Platz für deren Positionierung gegeben ist. Die oben beschriebenen Schritte des erfindungsgemäßen Verfahrens können wiederholt und modifiziert werden, um bestimmte Prozessierungen zu erzielen.

**PATENTANSPRÜCHE**

1. Verfahren zum Prozessieren von Substanzen im Reservoir (3) einer Mikrodosiereinrichtung (1), die zur Mikrotropfenabgabe ausgelegt ist, mit den Schritten:

- Bewegung eines festen Trägermaterials mit einer bindungsaktiven Oberfläche im Reservoir (3), und
- Bindung der Substanz auf der Oberfläche des Trägermaterials.

2. Verfahren gemäß Anspruch 1, bei dem zum Sammeln von Substanzen im Reservoir (3) abwechselnd wiederholt eine Aufnahme einer Lösung oder Suspension der Substanz in das Reservoir und eine Bindung der Substanz an das Trägermaterial erfolgt.

3. Verfahren gemäß Anspruch 1 oder 2, bei dem in das Reservoir (3) der Dosiereinrichtung ein Elutionsmittel aufgenommen wird, mit dem die am Trägermaterial gebundene Substanz abgelöst wird.

4. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, bei dem das Trägermaterial magnetische Partikel (7) umfaßt, deren Bewegung unter der Einwirkung eines veränderlichen Magnetfeldes erfolgt.

5. Verfahren gemäß Anspruch 4, bei dem das veränderliche Magnetfeld durch die simultane Bewegung von Permanentmagneten (81, 82) in Bezug auf das Reservoir (3) gebildet wird.

6. Verfahren gemäß Anspruch 4, bei dem das veränderliche Magnetfeld durch Elektromagneten oder Mikrosupraleiter erzeugt wird.

7. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3, bei dem das Trägermaterial einen Trägerballen (9) umfaßt, dessen Bewegung mit einem mechanischen Betätigungs element erfolgt.
8. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, bei dem als Dosiereinrichtung ein Mikrodispenser (1) oder eine Mikropipette verwendet wird.
9. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche bei dem das Prozessieren der Substanz ein Aufkonzentrieren, Aufreinigen, Präparieren und/oder Synthetisieren umfaßt.
10. Verfahren gemäß Anspruch 1, bei dem das Reservoir (3) ein Volumen unterhalb von 500 µl besitzt.
11. Vorrichtung zum Prozessieren von Substanzen, die durch eine Mikrodosiereinrichtung (1) mit einem Reservoir (3) gebildet wird, in dem ein Trägermaterial (7, 9) mit bindungsaktiver Oberfläche beweglich angeordnet ist, wobei eine Antriebseinrichtung zur Halterung und/oder Bewegung des Trägermaterials im Reservoir (3) vorgesehen ist und wobei die Dosiereinrichtung (1) zur Mikrotropfenabgabe ausgelegt ist.
12. Vorrichtung gemäß Anspruch 11, bei der die Mikrodosiereinrichtung eine Mikropipette oder ein Mikrodispenser (1) ist.
13. Vorrichtung gemäß Anspruch 11 oder 12, bei der das Trägermaterial magnetische Partikel (7) umfaßt.
14. Vorrichtung gemäß Anspruch 13, bei der die Antriebs einrichtung eine Magneteinrichtung (8) umfaßt.

15. Vorrichtung gemäß Anspruch 14, bei der die Magnet-einrichtung (8) mindestens einen Permanentmagneten umfaßt.

16. Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 11 oder 12, bei der das Trägermaterial einen porösen Trägerballen (9) umfaßt.

17. Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 11 bis 16, bei der eine Vielzahl von Mikrodosiereinrichtungen jeweils mit einem Reservoir und einer Antriebseinrichtung mit einer Vielzahl von Magneteinrichtungen (8) oder Trägerballen (9) vorgesehen sind.

18. Vorrichtung gemäß Anspruch 17, bei der die Vielzahl von Mikrodosiereinrichtungen eine Reihe von piezoelektrischen Mikrodispensern umfaßt.

19. Vorrichtung gemäß Anspruch 11, bei der das Reservoir (3) ein Volumen unterhalb von 500 µl besitzt.

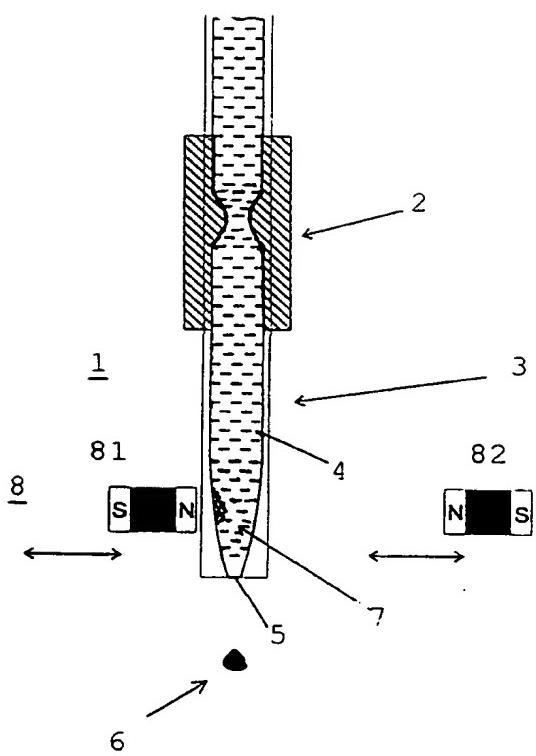


Fig. 1

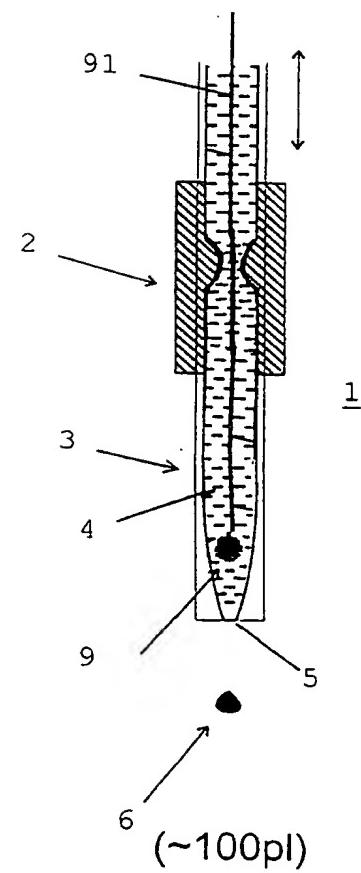


Fig. 2

~~BEST AVAILABLE COPY~~

THIS PAGE BLANK (USPTO)

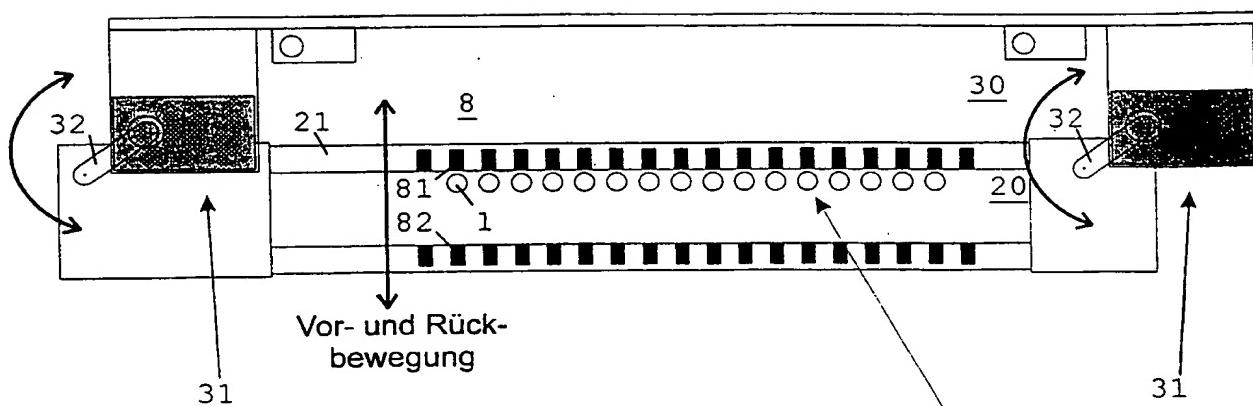
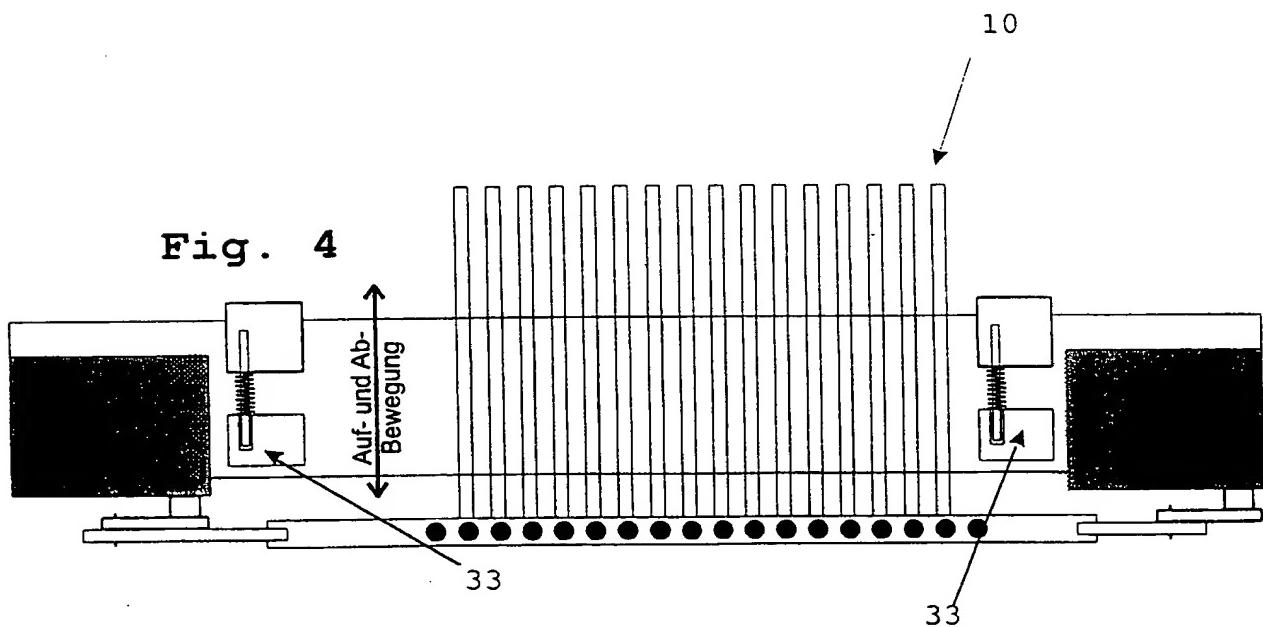


Fig. 3

Fig. 4



**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**BEST AVAILABLE COPY**



(51) Internationale Patentklassifikation <sup>6</sup> : <b>G01N 33/53, B01L 3/02, G01N 35/10</b>	A3	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: <b>WO 99/61881</b>  (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: <b>2. Dezember 1999 (02.12.99)</b>
(21) Internationales Aktenzeichen: <b>PCT/EP99/03667</b>		(81) Bestimmungsstaaten: JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).
(22) Internationales Anmeldedatum: <b>27. Mai 1999 (27.05.99)</b>		
(30) Prioritätsdaten: <b>198 23 719.7 27. Mai 1998 (27.05.98) DE</b>	DE	Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i>
(71) Anmelder ( <i>für alle Bestimmungsstaaten ausser US</i> ): <b>MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTEN E.V. [DE/DE]; Hofgartenstrasse 8, D-80539 München (DE).</b>		(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen Recherchenberichts: <b>23. März 2000 (23.03.00)</b>
(72) Erfinder; und		
(75) Erfinder/Anmelder ( <i>nur für US</i> ): <b>KALKUM, Markus [DE/DE]; Körtestrasse 19, D-10967 Berlin (DE). MÜLLER, Martin [DE/DE]; Grünfinkenweg 14, D-12526 Berlin (DE). NORDHOFF, Eckhard [DE/DE]; Tillmannsweg 5, D-14109 Berlin (DE). REINHARDT, Richard [DE/DE]; Brümmerstrasse 74, D-14195 Berlin (DE). EICKHOFF, Holger [DE/DE]; Lützelsteiner Weg 50, D-14195 Berlin (DE). RAUTH, Holger [DE/DE]; Schulzestrasse 35, D-13187 Berlin (DE).</b>		
(74) Anwalt: <b>HERTZ, Oliver; V. Bezold &amp; Sozien, Briener Strasse 52, D-80333 München (DE).</b>		

(54) Title: METHOD AND DEVICE FOR PROCESSING EXTREMELY SMALL SUBSTANCE QUANTITIES

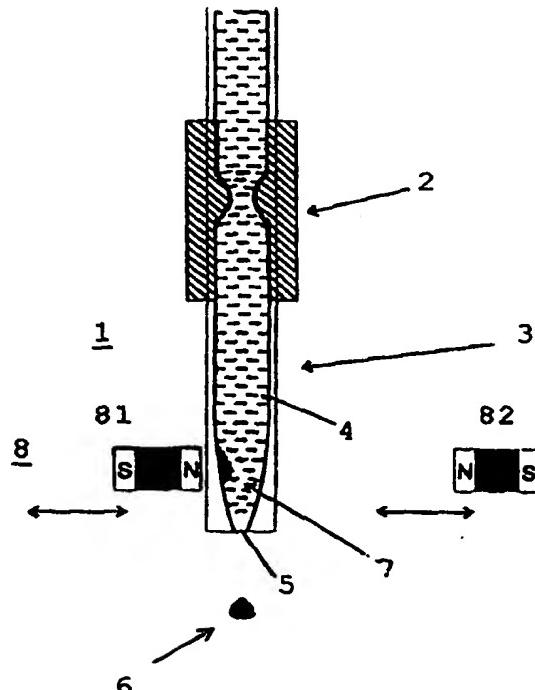
(54) Bezeichnung: VERFAHREN UND VORRICHTUNG ZUM PROZESSIEREN VON KLEINSTSUBSTANZMENGEN

## (57) Abstract

To process substances in the reservoir (3) of a microdroplet dosing device (1), a fixed support material having a binding-active surface is moved in the reservoir and the substance is bound to the surface of the support material which comprises magnetic particles (7) or a support bale.

## (57) Zusammenfassung

Zum Prozessieren von Substanzen im Reservoir (3) einer Mikrotropfen-Dosiereinrichtung (1), erfolgt eine Bewegung eines festen Trägermaterials mit einer bindungsaktiven Oberfläche im Reservoir, und eine Bindung der Substanz auf der Oberfläche des Trägermaterials, das magnetische Partikel (7) oder einen Trägerballen umfaßt.



#### ***LEDIGLICH ZUR INFORMATION***

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/EP 99/03667

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 : G 01N33/53, B01L3/02, G01N35/10

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 : G 01N, B01L

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 97/31105 A (PRECISION SYSTEM) 28 August 1997 (28.08.97), abstract  -----	1, 11
A	WO 97/44134 A (INCYTE) 27 November 1997 (27.11.97), abstract	1, 11

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
17 November 1999 (17.11.1999)

Date of mailing of the international search report  
20 December 1999 (20.12.99)

Name and mailing address of the ISA/

Authorized officer

European Patent Office

Telephone No.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

~~BEST AVAILABLE COPY~~

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 99/03667

## A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 6 : G 01N33/53, B01L3/02, G01N35/10

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 6 : G 01N, B01L

Recherchierte, aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	WO 97/31105 A (PRECISION SYSTEM) 28. August 1997 (28.08.97), Zusammenfassung -----	1, 11
A	WO 97/44134 A (INCYTE) 27. November 1997 (27.11.97), Zusammenfassung	1, 11

 Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen Siehe Anhang Patentfamilie

- \* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen:
- \*A\* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonderes bedeutsam anzusehen ist
- \*E\* Eheres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- \*L\* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zwifelhaft erscheinen zu lassen, durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- \*O\* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- \*P\* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist
- \*T\* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
- \*X\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden
- \*Y\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
- \*&\* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche  17. November 1999 (17.11.1999)	Absendedatum des internationalen Recherchenberichts  20. Dezember 1999 (20.12.99)
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde  Europäisches Patentamt, P.O. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl. Fax (+ 31-70) 340-3016	Bevollmächtigter Bediensteter  NARDAI e.h.  Telefonnr.

**ANHANG**

zum internationalen Recherchenbericht über die internationale Patentanmeldung Nr.

**ANNEX**

to the International Search Report to the International Patent Application No.

**ANNEXE**

au rapport de recherche international relatif à la demande de brevet international n°

FCT/EP 99/03667 SAE 238324

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obenge nannten internationalen Recherchenbericht angeführten Patentdokumente angegeben. Diese Angaben dienen nur zur Orientierung und erfolgen ohne Gewähr.

This Annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The Office is in no way liable for these particulars which are given merely for the purpose of information.

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents de brevets cités dans le rapport de recherche international visée ci-dessus. Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office.

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument Patent document cited in search report Document de brevet cité dans le rapport de recherche	Datum der Veröffentlichung Publication date Date de publication	Mitglied(er) der Patentfamilie Patent family member(s) Membre(s) de la famille de brevets	Datum der Veröffentlichung Publication date Date de publication
WO A1 9731105	28-08-1997	AU A1 EP A1	18111/97 825958
WO A1 9744134	27-11-1997	AU A1 EP A1 US A	31250/97 899495 5958342

09/701203

529 Rec'd PCT/PTC 27 NOV 2000

14665/US Hz/ap

CLAIMS  
(as amended during PCT chapter II procedure)

1. A method for processing at least one substance in the reservoir (3) of a microdosing device (1) designed for microdroplet delivery, **characterised by** the steps:
  - arrangement of a solid carrier material as a solid phase with a binding-active surface in the reservoir (3);
  - uptake of a solution or suspension of the substance into the reservoir (3);
  - movement of the carrier material in the reservoir (3) with binding of the substance to the surface of the carrier material taking place; and
  - treatment and/or collection of the substance in the reservoir (3).
2. A method according to claim 1 in which for the purpose of collecting substances in the reservoir (3) in turn repeated uptakes into the reservoir of a solution or suspension of the substance, and binding of the substance to the carrier material, take place.
3. A method according to claim 1 or 2 in which an elution agent is taken up in the reservoir (3) of the dosing device, with the substance bound to the carrier material being separated by said elution agent.
4. A method according to one of the preceding claims in which the carrier material comprises magnetic particles (7) whose movement takes place under the influence of a changeable magnetic field.
5. A method according to claim 4 in which the changeable magnetic field is formed by the simultaneous movement of permanent magnets (81, 82) in relation to the reservoir (3).

*THIS PAGE BLANK (USPTO)*

*THIS PAGE BLANK (USPTO)*

6. A method according to claim 4 in which the changeable magnetic field is generated by electromagnets or microsuperconductors.
7. A method according to one of claims 1 to 3 in which the carrier material comprises a carrier pad (9) whose movement takes place with a mechanical actuating element.
8. A method according to one of the preceding claims in which a microdispenser (1) or a micropipette is used as a dosing device.
9. A method according to one of the preceding claims in which processing of the substance comprises concentration, purification, preparation and/or synthetisation.
10. A method according to claim 1 in which the volume of the reservoir (3) is less than 500 µl.
11. A device for processing at least one substance, comprising a microdosing device (1) with a reservoir (3) in which a solid carrier material (7, 9) with a binding-active surface is movably arranged,  
**characterised in that** outside the reservoir (3) there is a drive device for holding and moving the carrier material in the reservoir (3) and that the dosing device (1) is designed for microdroplet delivery.
12. A device according to claim 11 in which the microdosing device is a micropipette or a microdispenser (1).
13. A device according to claim 11 or 12 in which the carrier material comprises magnetic particles (7).
14. A device according to claim 13, in which the drive device comprises a magnet device (8).

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

15. A device according to claim 14 in which the magnet device (8) comprises at least one permanent magnet.
16. A device according to one of claims 11 or 12 in which the carrier material comprises a porous carrier pad (9).
17. A device according to one of claims 11 to 16 comprising a multitude of microdosing devices each with a reservoir, and a drive device comprise a multitude of magnet devices (8) or carrier pads (9).
18. A device according to claim 17 in which the multitude of microdosing devices comprise a row of piezoelectric microdispensers.
19. A device according to claim 11 in which the volume of the reservoir (3) is less than 500  $\mu$ l.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## PATENT COOPERATION TREATY

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION  
(PCT Rule 61.2)Date of mailing (day/month/year)  
20 December 1999 (20.12.99)To:  
Assistant Commissioner for Patents  
United States Patent and Trademark  
Office  
Box PCT  
Washington, D.C.20231  
ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

in its capacity as elected Office

International application No.

PCT/EP99/03667

Applicant's or agent's file reference

14665/PCT Ri

International filing date (day/month/year)

27 May 1999 (27.05.99)

Priority date (day/month/year)

27 May 1998 (27.05.98)

Applicant

KALKUM, Markus et al

1. The designated Office is hereby notified of its election made:



in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

24 November 1999 (24.11.99)



in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election  was

 was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO  
34, chemin des Colombettes  
1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer

F. Baechler

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

Telephone No.: (41-22) 338.83.38

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING  
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and  
Administrative Instructions, Section 422)Date of mailing (day/month/year)  
20 December 1999 (20.12.99)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

HERTZ, Oliver  
V. Bezold & Sozien  
Akademiestrasse 7  
D-80799 München  
ALLEMAGNEApplicant's or agent's file reference  
14665/PCT Ri

## IMPORTANT NOTIFICATION

International application No.  
PCT/EP99/03667International filing date (day/month/year)  
27 May 1999 (27.05.99)

1. The following indications appeared on record concerning:

 the applicant     the inventor     the agent     the common representative

Name and Address

HERTZ, Oliver  
V. Bezold & Sozien  
Briener Strasse 52  
D-80333 München  
Germany

State of Nationality

State of Residence

Telephone No.

089/524001

Facsimile No.

089/526898

Teleprinter No.

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

 the person     the name     the address     the nationality     the residence

Name and Address

HERTZ, Oliver  
V. Bezold & Sozien  
Akademiestrasse 7  
D-80799 München  
Germany

State of Nationality

State of Residence

Telephone No.

089/389 99 80

Facsimile No.

089/389 99 850

Teleprinter No.

3. Further observations, if necessary:

The indication of a new address of the agent on the demand (Form PCT/IPEA/401) has been considered a request for recording a change under Rule 92bis. In case of disagreement, the International Bureau should be notified immediately.

4. A copy of this notification has been sent to:

 the receiving Office the designated Offices concerned the International Searching Authority the elected Offices concerned the International Preliminary Examining Authority other:The International Bureau of WIPO  
34, chemin des Colombettes  
1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer

F. Baechler

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

Telephone No.: (41-22) 338.83.38

003022254

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

W 09/701.203  
Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

4

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference 14665/PCT Ri	<b>FOR FURTHER ACTION</b> See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/EP99/03667	International filing date (day/month/year) 27 May 1999 (27.05.99)	Priority date (day/month/year) 27 May 1998 (27.05.98)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC G01N 33/53, B01L 3/02, G01N 35/10		
Applicant MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTEN E.V.		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
2. This REPORT consists of a total of 6 sheets, including this cover sheet.

This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of 4 sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I  Basis of the report
- II  Priority
- III  Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV  Lack of unity of invention
- V  Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability, citations and explanations supporting such statement
- VI  Certain documents cited
- VII  Certain defects in the international application
- VIII  Certain observations on the international application

RECEIVED  
MAY - 8 2000  
TC 1700 MAIL ROOM

Date of submission of the demand 24 November 1999 (24.11.99)	Date of completion of this report 13 July 2000 (13.07.2000)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

**I. Basis of the report**

1. This report has been drawn on the basis of (*Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.*):

the international application as originally filed.

the description, pages 1,3,5,-19, as originally filed,  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
pages 2,4,4a, filed with the letter of 08 May 2000 (08.05.2000),  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.

the claims, Nos. 2-10,12-19, as originally filed,  
Nos. \_\_\_\_\_, as amended under Article 19,  
Nos. \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
Nos. 1,11, filed with the letter of 08 May 2000 (08.05.2000),  
Nos. \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.

the drawings, sheets/fig 1/2,2/2, as originally filed,  
sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_,  
sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

the description, pages \_\_\_\_\_

the claims, Nos. \_\_\_\_\_

the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_

3.  This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:

**THIS PAGE BLANK (SPTC)**

## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.  
PCT/EP 99/03667**V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement**

## 1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-19	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims		YES
	Claims	1-19	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-19	YES
	Claims		NO

## 2. Citations and explanations

## 1. This report refers to the following documents:

D1: WO-A-97/31105 (search report)

D2: WO-A-97/44134 (search report)

D3: US-A-5 498 550 (cited on page 3 of the  
description)

## 2. Novelty and inventive step

## Claim 1

D1 relates to a method for the treatment of microorganisms, etc., wherein material is bound on magnetic particles. Figures c, d, e and f show the use of a solid support having a surface which promotes binding (magnetic particles in line 7 of the abstract). This material is displaced by the magnet M. The reference sign (2) indicates a pipet designed for dispensing drops.

Claim 1 indicates four steps: i. positioning..., ii. reception..., iii. displacement..., and iv. treatment and/or collection. All these steps appear to be mentioned in D1. In D1 steps i) and ii) take place simultaneously since under step c of D1 the sample fluid is aspirated by the pipet together with magnetic particles. Moreover, the

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

method of D1 does not include the displacement of the support (step iii) since the particles move in the direction of the magnet M, which also results in a binding process. At the same time all the particles collect on the inside of the pipet together with the substance. It would therefore appear that the only feature not known from D1 is the configuration of the device as a microdroplet dispenser.

The problem to be addressed by the present invention thus appears to be the miniaturization of the dispenser so as to permit the dispensing of very small samples or quantities of fluid.

Micropipets, however, are commonly known (cf. for example, D2, page 2, line 11 and D3, column 23, line 8). A person skilled in the art would mount such a micropipet at the lower end of the pipet described in D1 or miniaturize said pipet of D1 so as to be able to dispense the very small quantities required for the type of analysis mentioned in D1.

For the above reasons the solution suggested in Claim 1 of the present application cannot be considered inventive (PCT Article 33(3)).

D3 discloses a device and a method for the treatment of microparticles. As described in Example 7 (Figures 10(a) to (e)), the dosing device (33) (drops are dispensed downward; cf. Figures 10(c) and (d)) comprises a solid support (wire 31) which oscillates to promote surface binding (cf. column 23, lines 31-35 and 40-43).

Steps i to iv as per Claim 1 are also disclosed in D3, notably in Figure 10(a) (step i), Figure 10c (step ii), and column 23, lines 31-43 (steps iii and iv).

Consequently it seems that only the feature wherein the device is configured as a microdroplet dispenser is not known from D3.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT**International application No.  
PCT/EP 99/03667

The subject of the claim is therefore not inventive with respect to D3 for reasons similar to those given above.

(D2 describes a microdispenser which, however, does not comprise a solid support comparable to that indicated in the definition of Claim 1).

**Claim 11**

For similar reasons the device as per Claim 11 is also not inventive.

The dependent claims appear to have no additional features involving an inventive step since they either result from the subject matter of Claim 1 or relate to design methods which in the context would fall under the routine work of a person skilled in the art. With regard to Claims 10 and 19, D3 mentions a sample of approximately 1 ml (see column 27, line 52). However, the mere miniaturization of the sample vessels to a size smaller than 0.5 ml without any change in basic techniques is not considered inventive.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT**International application No.  
PCT/EP 99/03667**VIII. Certain observations on the international application**

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

**Clarity**

a) the terms "micro-dosing device" and "microdroplet dispensing" in the independent claims are vague since the dimensions of the equipment used, the drops and the metered doses are not indicated.

Moreover, the subjects of Claims 1 and 11 are not defined in such a way that the objective stated on page 1, lines 9-14 and on page 4a, lines 5-9 can be solved by same.

b) Claim 1 creates the impression that the steps should be carried out in the stated sequence. On pages 9-10 of the description, however, said steps are carried out in a different sequence.

c) The last step indicated in Claim 1 is not mentioned in the description.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



# v. Bezold & Sozien

Patentanwälte

v. Bezold & Sozien · Akademiestr. 7 · D-80799 München

Europäisches Patentamt  
Erhardstraße 27  
D-80298 München

Dieter v. Bezold  
Dr. rer. nat.  
Peter Schütz  
Dipl.-Ing.  
Wolfgang Heusler  
Dipl.-Ing.  
Oliver Hertz  
Dr. rer. nat., Dipl.-Phys.  
Jutta Draudt  
Dr. rer. nat., Dipl.-Chem.  
Patentanwälte  
European Patent and  
Trademark Attorneys

---

Akademiestr. 7  
D-80799 München  
Tel.: +49-89-38 999 80  
Fax: +49-89-38 999 850  
eMail: info@sombez.com

8. Mai 2000

Aktenzeichen            PCT/EP99/03667  
Anmelder:              Max-Planck-Gesellschaft  
Unser Zeichen:        14665/PCT Hz/ap

Auf den amtlichen Bescheid vom 18.02.2000

Hiermit werden neue Ansprüche 1 und 11 eingereicht, die die ursprünglichen Ansprüche 1 und 11 im weiteren Verfahren ersetzen sollen. Des Weiteren werden die neuen Beschreibungsseiten 2, 4 und 4a eingereicht, die die ursprünglichen Beschreibungsseiten 2 und 4 ersetzen sollen. Es wird um Fortsetzung des Prüfungsverfahrens auf der Grundlage der geänderten Unterlagen gebeten.

Die Ansprüche wurden wie folgt geändert. Anspruch 1 wurde gegenüber Entgegenhaltung D1 (WO-A-97 31 105) abgegrenzt und auf der Grundlage der Beschreibung (Seite 6, Absatz 3, Seite 9, Absatz 2, Seite 11, Absatz 3) klargestellt. In Anspruch 11 wurde die „und/oder“-Formulierung durch ein „und“ ersetzt. Die neuen Beschreibungsseiten enthalten eine Korrektur auf Seite 2 und eine Würdigung des Standes der Technik auf Seite 4.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

Die Verwendung der Begriffe „Mikrodosiereinrichtung“ bzw. „Mikrotropfenabgabe“ wird in den Ansprüchen beibehalten. Es wird von der Klarheit dieser Begriffsbildung ausgegangen, da aus dem Gesamteinhalt der Patentanmeldung der Unterschied zwischen einer Mikrodosiereinrichtung und herkömmlichen Dosiereinrichtungen (z. B. Laborpipetten) deutlich wird. Außerdem ist die Verwendung des Begriffs „Mikrodosiereinrichtung“ oder abgewandelter Ausdrücke in der Labortechnik durchaus üblich. So wird bspw. in Entgegenhaltung D3 (US-A-5 498 550) die Zuführung von Substanzen in den Reaktor mit einer „microsyringe“ genannt (siehe Spalte 23, Zeile 8).

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zum Prozessieren von Substanzen im Reservoir einer Mikrodosiereinrichtung. Ein gattungsgemäßes Verfahren könnte aus Entgegenhaltung D1 bekannt sein. Entgegenhaltung D1 offenbart ein Verfahren zur Behandlung von biologischen Materialien unter Verwendung einer Kombination aus einem Vorratsgefäß und einer Pipette. Dabei wird für die hier gegebene Argumentation angenommen, dass die Pipette zur Mikrotropfenabgabe ausgelegt ist. Es ist der Einsatz von mindestens zwei Sorten magnetischer Partikel vorgesehen, an die im Vorratsgefäß Substanzen gebunden werden und die mit der Substanz unter dem Einfluss eines äußeren Magnetfeldes M (siehe Teilbild c auf der Titelseite von Entgegenhaltung D1) in der Pipette gehalten werden können. Mit dem Verfahren gemäß Entgegenhaltung D1 können zwar Substanzen, die an magnetische Partikel gebunden sind, aus einer Lösung extrahiert werden. Dies setzt aber die Einbringung der magnetischen Partikel in ein relativ großes Vorratsgefäß (siehe Schritt b in Entgegenhaltung D1) und die Aufnahme des gesamten Inhalts des Vorratsgefäßes in eine Pipette voraus, wo das Magnetfeld M ausgebildet wird. Dies ist sowohl in Bezug auf die komplizierten Verfahrensschritte als auch hinsichtlich der großen Flüssigkeitsmengen nachteilig.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

Auch mit Blick auf Entgegenhaltung D1 wird die Aufgabe der Erfindung weiter in der Bereitstellung eines verbesserten Verfahrens zum Prozessieren kleinster Substanzmengen gesehen, das mit dem Einsatz herkömmlicher Werkzeuge zur Probenhandhabung im nl-Bereich kompatibel ist und einen möglichst breiten Einsatzbereich besitzt (siehe Seite 4, Absatz 4).

Zur Lösung dieser Aufgabe werden erfindungsgemäß ein festes Trägermaterial als Festphase mit bindungsaktiver Oberfläche unmittelbar im Reservoir einer Mikrodosiereinrichtung angeordnet, anschließend die zu verarbeitende Substanzlösung oder - suspension in das Reservoir aufgenommen, das Trägermaterial im Reservoir bewegt, wobei die Substanz auf der Oberfläche des Trägermaterials gebunden wird, und schließlich die Substanz im Reservoir einer Behandlung und/oder Sammlung unterzogen wird. Im Unterschied zum herkömmlichen Verfahren befindet sich das Trägermaterial, z. B. in Form magnetischer Partikel, dauerhaft im Reservoir der Mikrodosiereinrichtung. Sowohl die Substanzbindung als auch die Substanzprozessierung erfolgen ebenfalls im Reservoir. Die Vorteile dieser Technik sind in der Beschreibung (Seiten 6, 7, verbindender Absatz) aufgezählt.

Die Neuheit des Gegenstandes von Anspruch 1 ergibt sich aus dessen Abgrenzung. Aus keiner der Entgegenhaltungen ist ein Verfahren bekannt, bei dem die Anordnung eines festen Trägermaterials und dessen Bewegung zur Substanzbindung im Reservoir einer Mikrodosiereinrichtung vorgesehen sind. Dies ist in Bezug auf Entgegenhaltung D1 unmittelbar ersichtlich. Die magnetischen Partikel werden von der Pipette in das Vorratsgefäß gegeben (Schritt b) und umgekehrt in die Pipette übernommen, nachdem der Bindungsvorgang im Vorratsgefäß stattgefunden hat (Schritt c). Die Neuheit ist auch in Bezug auf Entgegenhaltung D2 (WO-A-97 44 134) gegeben, da dort die Anordnung eines festen Trägermaterials in einer Mikrodosiereinrichtung nicht beschrieben ist. Die Neuheit gegenüber Entgegenhaltung D3 (US-A-5 498 550) ergibt sich daraus, dass Entgegenhaltung D3 nicht auf die

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

Verwendung einer Mikrodosiereinrichtung bezogen ist. Insbesondere die Anordnung gemäß den Figuren 10a-e ist zur Abgabe von Tropfen im  $\mu\text{l}$ -Bereich wie eine laborübliche Handpipette ausgelegt. Es werden bspw. Flussraten von 1 bis 10 ml/h eingestellt. Dosiereinrichtungen vom Format herkömmlicher Laborpipetten stellen aber keine Mikrodosiereinrichtungen dar.

Die erfinderische Tätigkeit ist aus den folgenden Gründen zu bejahen. In keiner der Entgegenhaltungen wird eine Anregung gegeben, ein festes Trägermaterial im Reservoir einer Mikrodosiereinrichtung anzuordnen.

Der Übergang von der herkömmlichen Manipulierung von Trägermaterialien mit bindungsaktiven Oberflächen in Küvetten, Reaktorgefäß oder Pipetten zur erfindungsgemäßen Substanzprozessierung in Mikrodosiereinrichtungen stellt zwar an sich einen Miniaturisierungsschritt dar. Diesem kann im vorliegenden Fall jedoch nicht die erfinderische Qualität abgesprochen werden. Beim Übergang von einer Laborpipette zu einem Mikrodispenser ändern sich die Umstände der Mikrotropfenabgabe entscheidend: die Oberflächenspannung wird zu einem nicht mehr zu vernachlässigenden Parameter. Es ergeben sich z. B. neue Anforderungen an den Druckaufbau im Dispenser. Vor der Erfindung wurde erwartet, dass die Einbringung eines Trägermaterials mit bindungsaktiver Oberfläche in das Reservoir einer Mikrodosiereinrichtung zu deren Funktionsausfall führen würde. Dieses Vorurteil konnte jedoch mit der Erfindung überwunden werden. Die erfinderische Qualität wird auch mit den Vorteilen der Erfindung (siehe Seiten 6, 7, verbindender Absatz, Seite 7, Absatz 2 und Seite 18, Absatz 4) begründet. Wiederum ist darauf hinzuweisen, dass die erfindungsgemäße Verarbeitung kleinster Substanzmengen eine wesentliche Verbesserung für die Labortechnik darstellt, da die Substanzprozessierung unmittelbar an die in der Biochemie, Gentechnik und Medizin zu verarbeitenden kleinsten Probenmengen angepasst ist.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Nachdem die Unterlagen überarbeitet und die Patentfähigkeit der Erfindung begründet wurden, wird um einen positiven internationalen Prüfungsbericht gebeten.



Dr. Oliver Hertz

Patentanwalt

Anlage:

Neue Ansprüche 1, 11 (dreifach)

Beschreibungsseiten 2, 4, 4a (dreifach)

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

Neue Patentansprüche 1, 11

1. Verfahren zum Prozessieren von mindestens einer Substanz im Reservoir (3) einer Mikrodosiereinrichtung (1), die zur Mikrotropfenabgabe ausgelegt ist, **gekennzeichnet durch** die Schritte:

- Anordnung eines festen Trägermaterials als Festphase mit bindungsaktiver Oberfläche im Reservoir (3),
- Aufnahme einer Lösung oder Suspension der Substanz in das Reservoir (3),
- Bewegung des Trägermaterials im Reservoir (3), wobei eine Bindung der Substanz auf der Oberfläche des Trägermaterials erfolgt, und
- Behandlung und/oder Sammlung der Substanz im Reservoir (3).

11. Vorrichtung zum Prozessieren von mindestens einer Substanz, mit einer Mikrodosiereinrichtung (1), die ein Reservoir (3) aufweist, in dem ein festes Trägermaterial (7, 9) mit bindungsaktiver Oberfläche beweglich angeordnet ist, **dadurch gekennzeichnet, dass** außerhalb des Reservoirs (3) eine Antriebseinrichtung zur Halterung und Bewegung des Trägermaterials im Reservoir (3) vorgesehen ist und die Dosiereinrichtung (1) zur Mikrotropfenabgabe ausgelegt ist.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

Beim Nachweis der interessierenden Substanzen erreichen massenspektrometrische Verfahren heute Nachweisempfindlichkeiten im Attomol- bis unteren Femtomol-Bereich. Diese Empfindlichkeit kann in der Praxis effektiv nur dann genutzt werden, wenn der Analyt in möglichst reiner Form in einem nur wenige Nanoliter umfassenden Volumen vorliegt. Auch hierfür besteht ein Interesse an einer Aufreinigung oder Anreicherung von Substanzproben.

Aus der chemischen und biochemischen Analytik ist allgemein bekannt, zur Probenanreicherung in die jeweilige Lösung oder Suspension Festphasen einzubringen, an denen die gewünschten Moleküle vorübergehend gebunden werden. Bei geeigneten magnetischen Materialeigenschaften können die Festphasen unter Wirkung magnetischer Feldkräfte manipuliert werden (magnetische Aufreinigung).

Aus US-A-5 186 827 ist eine magnetische Trenneinrichtung zur Trennung magnetischer Teilchen von einem nicht-magnetischen Testmedium bekannt. Die magnetischen Teilchen sind kleine Partikel, auf deren Oberflächen die interessierenden Substanzen gebunden sind, oder beispielsweise biologische Zellen, in die magnetische Substanzen inkorporiert sind. Mit einer Vielzahl von Magneten wird im Testmedium ein magnetischer Feldgradient derart aufgebaut, daß die magnetischen Teilchen an die Gefäßwandung bewegt und dort gesammelt werden. Die aus US-A-5 186 827 bekannte magnetische Trenneinrichtung besitzt die folgenden Nachteile.

Die Trenneinrichtung besitzt einen komplexen Aufbau. Zur Ausbildung der Feldgradienten müssen mindestens vier Magneten vorhanden sein, die in vorbestimmter Weise angeordnet sind und die Verwendung bestimmter Behältnisse für das Testmedium erfordern. Die für charakteristische Behältnis-Dimensionen im

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

tauchen eines stiftförmigen Permanentmagneten eingerichtet ist. Der Nachteil dieser Technik besteht darin, daß die Küvetten kein Dispersieren des Testmediums erlauben und damit das Testmedium nur schwer handhabbar ist.

Weitere Systeme zur Manipulierung magnetischer oder magnetisierbarer Partikel sind aus WO 86/06493, WO 89/01161, US-A-5 147 529 und US-A-3 985 649 bekannt. All diese Systeme erlauben jedoch keine Medienabgabe nach Art eines Dispensers. Diese Dispensierfunktion ist jedoch gerade in Zusammenhang mit den eingangs genannten Aufgaben in der Biochemie, Gentechnik und Medizin von entscheidender Bedeutung.

Aus WO 97/31105 ist ein Verfahren zur Behandlung von Biopolymeren, Mikroorganismen oder Materialien mit mehreren Arten magnetischer Partikel bekannt. Die zu behandelnden Materialien werden in einem Vorratsgefäß mit den magnetischen Partikeln versetzt und an deren Oberflächen gebunden. Mit einer Pipette werden aus dem Vorratsgefäß Proben entnommen. Unter der Wirkung eines Magnetfeldes können magnetische Partikel mit gebundenen Materialien im Inneren der Pipette festgehalten werden. Aus WO 97/44134 ist eine Tropfenschusseinrichtung bekannt, mit der mikroskopisch kleine Flüssigkeitstropfen auf Substrate übertragen werden können.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

Gegenwärtig ist keine Aufreinigungs- oder Anreicherungstechnik bekannt, die zur Prozessierung (z. B. Handhabung, Sammlung, Reinigung oder dergl.) kleinster Substanzmengen (bis zum nl-Bereich und darunter) einsetzbar ist.

Es ist die Aufgabe der Erfindung, ein Verfahren zum Prozessieren kleinster Substanzmengen anzugeben, das insbesondere mit dem Einsatz herkömmlicher Werkzeuge zur Probenhandhabung im nl-Bereich kompatibel ist und einen möglichst breiten Einsatzbereich besitzt. Das Verfahren soll einfach in die üblichen Methoden zur Probenhandhabung, zum Probennachweis und zur Probenbearbeitung aus der Biochemie, Gentechnik und Medizin integrierbar sein. Die Aufgabe der Erfindung besteht auch darin, eine Vorrichtung zur Implementierung eines derartigen Verfahrens anzugeben.

Die Aufgabe der Erfindung wird durch ein Verfahren oder Vorrichtungen gemäß den Patentansprüchen 1 bzw. 11 gelöst. Bevorzugte Ausführungsformen der Erfindung ergeben sich aus den abhängigen Ansprüchen.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

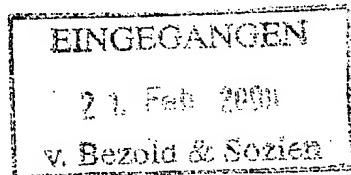
18. Mai 2000

# VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

Absender: MIT DER INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN PRÜFUNG BEAUFTRAGTE BEHÖRDE

An:

HERTZ, Oliver  
V. Bezold & Sozien  
Akademiestrasse 7  
D-80799 München  
ALLEMAGNE



PCT

## SCHRIFTLICHER BESCHEID (Regel 66 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts <b>14665/PCT Ri</b>		<b>ANTWORT FÄLLIG</b> innerhalb von <b>3 Monat(en)</b> ab obigem Absendedatum	
Internationales Aktenzeichen <b>PCT/EP99/03667</b>	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) <b>27/05/1999</b>	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) <b>27/05/1998</b>	
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK <b>G01N1/00</b>			
Anmelder <b>MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSC</b>			

1. Dieser Bescheid ist der **erste** schriftliche Bescheid der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde
2. Dieser Bescheid enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I  Grundlage des Bescheides
- II  Priorität
- III  Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erforderliche Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV  Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V  Begründete Feststellung nach Regel 66.2(a)(ii) hinsichtlich der Neuheit, der erforderlichen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI  Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII  Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII  Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

3. Der Anmelder wird **aufgefordert**, zu diesem Bescheid **Stellung zu nehmen**

**Wann?** Siehe oben genannte Frist. Der Anmelder kann vor Ablauf dieser Frist bei der Behörde eine Verlängerung beantragen, siehe Regel 66.2 d).

**Wie?** Durch Einreichung einer schriftlichen Stellungnahme und gegebenenfalls von Änderungen nach Regel 66.3. Zu Form und Sprache der Änderungen, siehe Regeln 66.8 und 66.9.

**Dazu:** Hinsichtlich einer zusätzlichen Möglichkeit zur Einreichung von Änderungen, siehe Regel 66.4. Hinsichtlich der Verpflichtung des Prüfers, Änderungen und/oder Gegenvorstellungen zu berücksichtigen, siehe Regel 66.4 bis. Hinsichtlich einer formlosen Erörterung mit dem Prüfer, siehe Regel 66.6.

**Wird keine Stellungnahme eingereicht**, so wird der internationale vorläufige Prüfungsbericht auf der Grundlage dieses Bescheides erstellt.

4. Der Tag, an dem der internationale vorläufige Prüfungsbericht gemäß Regel 69.2 spätestens erstellt sein muß, ist der: **27/09/2000**.

Name und Postanschrift der mit der internationalen Prüfung beauftragte Behörde:  Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter / Prüfer  Loades, M  Formalsachbearbeiter (einschl. Fristverlängerung) Conner, M Tel. +49 89 2399 8557
---	--



**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**I. Grundlage des Bescheids**

1. Dieser Bescheid wurde erstellt auf der Grundlage (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Bescheids als "ursprünglich eingereicht".*):

**Beschreibung, Seiten:**

1-19                    ursprüngliche Fassung

**Patentansprüche, Nr.:**

1-19                    ursprüngliche Fassung

**Zeichnungen, Blätter:**

1/2-2/2                ursprüngliche Fassung

**2. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:**

- Beschreibung,      Seiten:
- Ansprüche,          Nr.:
- Zeichnungen,        Blatt:

3. Dieser Bescheid ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)):

**4. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:****V. Begründete Feststellung nach Regel 66.2(a)(ii) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung****1. Feststellung**

Neuheit (N)	Ansprüche	1,11
Erfinderische Tätigkeit (IS)	Ansprüche	1-19
Gewerbliche Anwendbarkeit (IA)	Ansprüche	

**2. Unterlagen und Erklärungen:**

si   he Beiblatt

*THIS PAGE BLANK (USPTO)*

**VII. Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung**

Es wurde festgestellt, daß die internationale Anmeldung nach Form oder Inhalt folgende Mängel aufweist:

**siehe Beiblatt**

**VIII. Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung**

Zur Klarheit der Patentansprüche, der Beschreibung und der Zeichnungen oder zu der Frage, ob die Ansprüche in voller Umfang durch die Beschreibung gestützt werden, ist folgendes zu bemerken:

**siehe Beiblatt**

*THIS PAGE BLANK (USPTO)*

**Zu Punkt V**

**Begründete Feststellung nach Regel 66.2(a)(ii) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung**

1. In diesem Bescheid sind folgende Dokumente genannt; die Numerierung wird auch im weiteren Verfahren beibehalten:

- D1: WO-A- 97 31105 (Recherchenbericht)
- D2: WO-A- 97 44134 ( „ „ )
- D3: US-A- 5498550 (auf S.3 der Beschreibung zitiert)

2. Neuheit und erfinderische Tätigkeit

**Anspruch 1**

D1 betrifft ein Verfahren zur Behandlung von Mikroorganismen usw., bei dem das Material auf magnetischen Partikeln gebunden wird. Figs. c, d, e und f zeigen die Verwendung eines festen Trägermaterials mit einer bindungsaktiven Oberfläche (magnetische Partikel in Zeile 7 der Zusammenfassung). Dieses Material wird vom Magneten M bewegt. Bezugszeichen 2 zeigt eine Pipette, die zur Mikrotropfenabgabe ausgelegt ist.

Daher scheint der Gegenstand des Anspruchs 1 aus D1 bekannt zu sein.

D3 beschreibt eine Vorrichtung bzw. ein Verfahren zur Behandlung von Mikropartikeln. Wie in Beispiel 7 (Figuren 10(a) bis 10(e)) beschrieben wird, beinhaltet die Mikrodosiereinrichtung 33 (Tropfenabgabe nach unten (siehe Figuren 10(c) und 10(d)) ein festes Trägermaterial (Draht 31), das oszilliert, um die Bindung auf der Oberfläche zu fördern (siehe Spalte 23, Zeilen 31-35 bzw. 40-43). Daher scheint der Gegenstand des Anspruchs 1 aus D3 ebenfalls bekannt zu sein.

(D2 beschreibt eine Mikrodosiereinrichtung, die jedoch kein vergleichbares festes Trägermaterial gemäß der Definition von Anspruch 1 umfaßt).

**Anspruch 11**

Aus ähnlichen Gründen ist die Vorrichtung gemäß Anspruch 11 ebenfalls nicht neu.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

Die abhängigen Ansprüche enthalten offenbar keine zusätzlichen Merkmale, die eine erfinderische Tätigkeit beinhalten, da sie sich entweder aus dem Gegenstand des Anspruchs 1 ergeben oder sich auf übliche Konstruktionsverfahren, die der Fachmann den Umständen entsprechend anwenden würde, beziehen.

In Bezug auf die Ansprüche 10,19: D3 erwähnt eine Probe von etwa 1ml (siehe Spalte 27, Z.52). Die bloße Miniaturisierung der Probenbehälter auf weniger als 0.5ml, wobei die grundsätzlichen Techniken unverändert bleiben, ist nicht als erfinderisch zu betrachten.

**Zu Punkt VII**

**Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung**

1. Die Nummer des US Patents auf S. 2, Z. 16 scheint falsch zu sein - Vergleiche die beigefügte Kopie der Zusammenfassung.
2. Dokumente D1, D2 sollten gewürdigt werden.

**Zu Punkt VIII**

**Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung**

**Klarheit**

- die Begriffe "Mikrodosiereinrichtung" und "Mikrotropfenabgabe" in den unabhängigen Ansprüchen sind vage, weil keine Dimensionen von den verwendeten Geräten bzw. Tropfen bzw. Dosierungen angegeben sind.
- Weiterhin scheinen die Gegenstände der Ansprüche 1 bzw.11 nicht so definiert zu sein, daß die auf S. 1, Z. 9-14 bzw. auf S.4, Z.16-20 angegebene Aufgabe ausgeführt werden kann.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

20. Feb. 2000

**VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT  
AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS**

Absender: INTERNATIONALE RECHERCHENBEHÖRDE

**PCT**

An  
**VON BEZOLD & SOZIEN**  
z.H. HERTZ, Oliver  
Briener Strasse 52  
D-80333 München  
GERMANY

MITTEILUNG ÜBER DIE ÜBERMITTLUNG DES  
INTERNATIONALEN RECHERCHENBERICHTS  
ODER DER ERKLÄRUNG

(Regel 44.1 PCT)

Absendedatum (Tag/Monat/Jahr)	20/12/1999
----------------------------------	------------

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts <b>14665/PCT Ri</b>	WEITERES VORGEHEN	siehe Punkte 1 und 4 unten
--	-------------------	----------------------------

Internationales Aktenzeichen <b>PCT/EP 99/03667</b>	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr)	27/05/1999
--	--	------------

Anmelder

**MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSC**

1.  Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß der internationale Recherchenbericht erstellt wurde und ihm hiermit übermittelt wird.

**Einreichung von Änderungen und einer Erklärung nach Artikel 19:**

Der Anmelder kann auf eigenen Wunsch die Ansprüche der internationalen Anmeldung ändern (siehe Regel 46):

**Bis wann sind Änderungen einzureichen?**

Die Frist zur Einreichung solcher Änderungen beträgt üblicherweise zwei Monate ab der Übermittlung des internationalen Recherchenberichts; weitere Einzelheiten sind den Anmerkungen auf dem Beiblatt zu entnehmen.

**Wo sind Änderungen einzureichen?**

Unmittelbar beim Internationalen Büro der WIPO, 34, CHEMIN des Colombettes, CH-1211 Genf 20,  
Telefaxnr.: (41-22) 740.14.35

Nähere Hinweise sind den Anmerkungen auf dem Beiblatt zu entnehmen.

2.  Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß kein internationaler Recherchenbericht erstellt wird und daß ihm hiermit die Erklärung nach Artikel 17(2)a) übermittelt wird.

3.  **Hinsichtlich des Widerspruchs** gegen die Entrichtung einer zusätzlichen Gebühr (zusätzlicher Gebühren) nach Regel 40.2 wird dem Anmelder mitgeteilt, daß

der Widerspruch und die Entscheidung hierüber zusammen mit seinem Antrag auf Übermittlung des Wortlauts sowohl des Widerspruchs als auch der Entscheidung hierüber an die Bestimmungsämter dem Internationalen Büro übermittelt worden sind.

noch keine Entscheidung über den Widerspruch vorliegt; der Anmelder wird benachrichtigt, sobald eine Entscheidung getroffen wurde.

4. **Weiteres Vorgehen:** Der Anmelder wird auf folgendes aufmerksam gemacht:

Kurz nach Ablauf von 18 Monaten seit dem Prioritätsdatum wird die internationale Anmeldung vom Internationalen Büro veröffentlicht. Will der Anmelder die Veröffentlichung verhindern oder auf einen späteren Zeitpunkt verschieben, so muß gemäß Regel 90 <sup>bis</sup> bzw. 90<sup>bis</sup> 3 vor Abschluß der technischen Vorbereitungen für die internationale Veröffentlichung eine Erklärung über die Zurücknahme der internationalen Anmeldung oder des Prioritätsanspruchs beim Internationalen Büro eingehen.

Innerhalb von 19 Monaten seit dem Prioritätsdatum ist ein Antrag auf internationale vorläufige Prüfung einzureichen, wenn der Anmelder den Eintritt in die nationale Phase bis zu 30 Monaten seit dem Prioritätsdatum (in manchen Ämtern sogar noch länger) verschieben möchte.

Innerhalb von 20 Monaten seit dem Prioritätsdatum muß der Anmelder die für den Eintritt in die nationale Phase vorgeschriebenen Handlungen vor allen Bestimmungsämtern vornehmen, die nicht innerhalb von 19 Monaten seit dem Prioritätsdatum in der Anmeldung oder einer nachträglichen Auswahlserklärung ausgewählt wurden oder nicht ausgewählt werden konnten, da für sie Kapitel II des Vertrages nicht verbindlich ist.

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde   Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL-2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Bevollmächtigter Bediensteter  Saskia Decocker
--	--

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## **ANMERKUNGEN ZU FORMBLATT PCT/ISA/220**

Diese Anmerkungen sollen grundlegende Hinweise zur Einreichung von Änderungen gemäß Artikel 19 geben. Diesen Anmerkungen liegen die Erfordernisse des Vertrags über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens (PCT), der Ausführungsordnung und der Verwaltungsvorschriften zu diesem Vertrag zugrunde. Bei Abweichungen zwischen diesen Anmerkungen und obengenannten Texten sind letztere maßgebend. Nähere Einzelheiten sind dem PCT-Leitfaden für Anmelder, einer Veröffentlichung der WIPO, zu entnehmen.

Die in diesen Anmerkungen verwendeten Begriffe "Artikel", "Regel" und "Abschnitt" beziehen sich jeweils auf die Bestimmungen des PCT-Vertrags, der PCT-Ausführungsordnung bzw. der PCT-Verwaltungsvorschriften.

### **HINWEISE ZU ÄNDERUNGEN GEMÄSS ARTIKEL 19**

Nach Erhalt des internationalen Recherchenberichts hat der Anmelder die Möglichkeit, einmal die Ansprüche der internationalen Anmeldung zu ändern. Es ist jedoch zu betonen, daß, da alle Teile der internationalen Anmeldung (Ansprüche, Beschreibung und Zeichnungen) während des internationalen vorläufigen Prüfungsverfahrens geändert werden können, normalerweise keine Notwendigkeit besteht, Änderungen der Ansprüche nach Artikel 19 einzureichen, außer wenn der Anmelder z.B. zum Zwecke eines vorläufigen Schutzes die Veröffentlichung dieser Ansprache wünscht oder ein anderer Grund für eine Änderung der Ansprüche vor ihrer internationalen Veröffentlichung vorliegt. Weiterhin ist zu beachten, daß ein vorläufiger Schutz nur in einigen Staaten erhältlich ist.

#### **Welche Teile der internationalen Anmeldung können geändert werden?**

Im Rahmen von Artikel 19 können nur die Ansprüche geändert werden.

In der internationalen Phase können die Ansprüche auch nach Artikel 34 vor der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde geändert (oder nochmals geändert) werden. Die Beschreibung und die Zeichnungen können nur nach Artikel 34 vor der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde geändert werden.

Beim Eintritt in die nationale Phase können alle Teile der internationalen Anmeldung nach Artikel 28 oder gegebenenfalls Artikel 41 geändert werden.

#### **Bis wann sind Änderungen einzureichen?**

Innerhalb von zwei Monaten ab der Übermittlung des internationalen Recherchenberichts oder innerhalb von sechzehn Monaten ab dem Prioritätsdatum, je nachdem, welche Frist später abläuft. Die Änderungen gelten jedoch als rechtzeitig eingereicht, wenn sie dem Internationalen Büro nach Ablauf der maßgebenden Frist, aber noch vor Abschluß der technischen Vorbereitungen für die internationale Veröffentlichung (Regel 46.1) zugehen.

#### **Wo sind Änderungen nicht einzureichen?**

Die Änderungen können nur beim Internationalen Büro, nicht aber beim Anmeldeamt oder der Internationalen Recherchenbehörde eingereicht werden (Regel 46.2).

Falls ein Antrag auf internationale vorläufige Prüfung eingereicht wurde/wird, siehe unten.

#### **In welcher Form können Änderungen erfolgen?**

Eine Änderung kann erfolgen durch Streichung eines oder mehrerer ganzer Ansprüche, durch Hinzufügung eines oder mehrerer neuer Ansprüche oder durch Änderung des Wortlauts eines oder mehrerer Ansprüche in der eingereichten Fassung.

Für jedes Anspruchsblatt, das sich aufgrund einer oder mehrerer Änderungen von dem ursprünglich eingereichten Blatt unterscheidet, ist ein Ersatzblatt einzureichen.

Alle Ansprüche, die auf einem Ersatzblatt erscheinen, sind mit arabischen Ziffern zu numerieren. Wird ein Anspruch gestrichen, so brauchen die anderen Ansprüche nicht neu numeriert zu werden. Im Fall einer Neunumerierung sind die Ansprüche fortlaufend zu numerieren (Verwaltungsvorschriften, Abschnitt 205 b)).

Die Änderungen sind in der Sprache abzufassen, in der die internationale Anmeldung veröffentlicht wird.

#### **Welche Unterlagen sind den Änderungen beizufügen?**

##### **Begleitschreiben (Abschnitt 205 b)):**

Die Änderungen sind mit einem Begleitschreiben einzureichen.

Das Begleitschreiben wird nicht zusammen mit der internationalen Anmeldung und den geänderten Ansprüchen veröffentlicht. Es ist nicht zu verwechseln mit der "Erklärung nach Artikel 19(1)" (siehe unten, "Erklärung nach Artikel 19 (1)").

Das Begleitschreiben ist nach Wahl des Anmelders in englischer oder französischer Sprache abzufassen. Bei englischsprachigen internationalen Anmeldungen ist das Begleitschreiben aber ebenfalls in englischer, bei französischsprachigen internationalen Anmeldungen in französischer Sprache abzufassen.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**VERTRAG ÜBER INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT  
AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS**

**PCT**

**INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT**

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts <b>14665/PCT Ri</b>	<b>WEITERES VORGEHEN</b>	siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5
Internationales Aktenzeichen <b>PCT / EP 99/ 03667</b>	Internationales Anmelde datum (Tag/Monat/Jahr) <b>27/05/1999</b>	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) <b>27/05/1998</b>
Anmelder		
<b>MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFT</b>		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 2 Blätter.

Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

**1. Grundlage des Berichts**

- a. Hinsichtlich der Sprache ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

- Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.
- b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das
- in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2.  Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen (siehe Feld I).

3.  Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).

**4. Hinsichtlich der Bezeichnung der Erfindung**

- wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.
- wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

**5. Hinsichtlich der Zusammenfassung**

- wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.
- wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

**6. Folgende Abbildung der Zeichnungen ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. 1**

- wie vom Anmelder vorgeschlagen
- weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.
- weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.
- keine der Abb.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internat. Aktenzeichen:

PCT/EP 99/03667

## A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

G01N33/53, B01L3/02, G01N35/10

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC 6

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprässtoff (Klassifikationssystem und Klassifikationsymbole)

G01N, B01L

Recherchierte aber nicht zum Mindestprässtoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	WO 97/31105 A (PRECISION SYSTEM) 28 August 1997, abstract. --	1, 11
A	WO 97/44134 A (INCYTE) 27 November 1997, abstract. -----	1, 11

 Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen Siehe Anhang Patentsfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

- \*' Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- \*' älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- \*' Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll, oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- \*' Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- \*' Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

- \*' Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

- \*' Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfindnerischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

- \*' Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfindnerischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann nahelegend ist

- \*' Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentsfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

17 November 1999

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

20.12.1999

Name und Postanschrift der internationale Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P.O. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 cpo nl,  
Fax (+ 31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

NARDAI e.h.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**ANHANG**

zum internationalen Recherchenbericht über die Internationale Patentanmeldung Nr.

**ANNEX**

to the International Search Report to the International Patent Application No.

**ANNEXE**

au rapport de recherche international relatif à la demande de brevet international n°

PCT/EP 99/03667 SAE 238324

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten internationalen Recherchenbericht angeführten Patentdokumente angegeben. Diese Angaben dienen nur zur Orientierung und erfolgen ohne Gewähr.

This Annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The Office is in no way liable for these particulars which are given merely for the purpose of information.

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents de brevets cités dans le rapport de recherche international visé ci-dessus. Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office.

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument Patent document cited in search report Document de brevet cité dans le rapport de recherche	Datum der Veröffentlichung Publication date Date de publication	Mitglied(er) der Patentfamilie Patent family member(s) Membre(s) de la famille de brevets	Datum der Veröffentlichung Publication date Date de publication
WO A1 9731105	28-08-1997	AU A1 18111/97 EP A1 885958	10-09-1997 23-12-1998
WO A1 9744134	27-11-1997	AU A1 31250/97 EP A1 898495 US A 5958342	09-12-1997 03-03-1999 28-09-1999

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

# PCT

## ANTRAG

Der Unterzeichnete beantragt, daß die vorliegende internationale Anmeldung nach dem Vertrag über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens behandelt wird.

Vom Anmeldeamt auszufüllen

Internationales Aktenzeichen

Internationales Anmeldedatum

Name des Anmeldeamts und "PCT International Application"

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts (falls gewünscht)  
(max. 12 Zeichen) 14665/PCT Ri

### Feld Nr. I BEZEICHNUNG DER ERFINDUNG

Verfahren und Vorrichtung zum Prozessieren von Kleinstsubstanzmengen

### Feld Nr. II ANMELDER

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

Max-Planck-Gesellschaft  
zur Förderung der Wissenschaften e.V.  
Hofgartenstraße 8  
D-80539 München (DE)

Diese Person ist gleichzeitig Erfinder

Telefonnr.:

Telefaxnr.:

Fernschreibnr.:

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

alle Bestimmungsstaaten

alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

nur die Vereinigten Staaten von Amerika

die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

### Feld Nr. III WEITERE ANMELDER UND/ODER (WEITERE) ERFINDER

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

Kalkum, Markus  
Körtestraße 19  
D-10967 Berlin (DE)

Diese Person ist:

nur Anmelder

Anmelder und Erfinder

nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

alle Bestimmungsstaaten

alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

nur die Vereinigten Staaten von Amerika

die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Weitere Anmelder und/oder (weitere) Erfinder sind auf einem Fortsetzungsblatt angegeben.

### Feld Nr. IV ANWALT ODER GEMEINSAMER VERTRETER; ZUSTELLANSCHRIFT

Die folgende Person wird hiermit bestellt/ist bestellt worden, um für den (die) Anmelder vor den zuständigen internationalen Behörden in folgender Eigenschaft zu handeln als:  Anwalt  gemeinsamer Vertreter

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)

Hertz, Oliver  
v. Bezold & Sozien  
Briener Straße 52  
D-80333 München (DE)

Telefonnr.:

089 / 52 40 01

Telefaxnr.:

089 / 52 68 98

Fernschreibnr.:

---

Dieses Kästchen ist anzukreuzen, wenn kein Anwalt oder gemeinsamer Vertreter bestellt ist und statt dessen im obigen Feld eine spezielle Zustellanschrift angegeben ist.

**THIS PAGE IS ANK (USPTO)**

**Fortsetzung von Feld Nr. III WEITERE ANMELDER UND/ODER (WEITERE) ERFINDER***Wird keines der folgenden Felder benutzt, so ist dieses Blatt dem Antrag nicht beizufügen.*

<p>Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)</p> <p>Müller, Martin Grünfinkenweg 14 D-12526 Berlin (DE)</p>		<p>Diese Person ist:</p> <p><input type="checkbox"/> nur Anmelder</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Anmelder und Erfinder</p> <p><input type="checkbox"/> nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)</p>
<p>Staatsangehörigkeit (Staat): DE</p>	<p>Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE</p>	
<p>Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten: <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika <input checked="" type="checkbox"/> nur die Vereinigten Staaten von Amerika <input type="checkbox"/> die im Zusatzfeld angegebenen Staaten</p>		
<p>Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)</p> <p>Nordhoff, Eckhard Tillmannsweg 5 D-14109 Berlin</p>		<p>Diese Person ist:</p> <p><input type="checkbox"/> nur Anmelder</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Anmelder und Erfinder</p> <p><input type="checkbox"/> nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)</p>
<p>Staatsangehörigkeit (Staat): DE</p>	<p>Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE</p>	
<p>Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten: <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika <input checked="" type="checkbox"/> nur die Vereinigten Staaten von Amerika <input type="checkbox"/> die im Zusatzfeld angegebenen Staaten</p>		
<p>Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)</p> <p>Reinhardt, Richard Brümmerstraße 74 D-14195 Berlin (DE)</p>		<p>Diese Person ist:</p> <p><input type="checkbox"/> nur Anmelder</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Anmelder und Erfinder</p> <p><input type="checkbox"/> nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)</p>
<p>Staatsangehörigkeit (Staat): DE</p>	<p>Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE</p>	
<p>Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten: <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika <input checked="" type="checkbox"/> nur die Vereinigten Staaten von Amerika <input type="checkbox"/> die im Zusatzfeld angegebenen Staaten</p>		
<p>Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)</p> <p>Eickhoff, Holger Lützelsteiner Weg 50 D-14195 Berlin (DE)</p>		<p>Diese Person ist:</p> <p><input type="checkbox"/> nur Anmelder</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Anmelder und Erfinder</p> <p><input type="checkbox"/> nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)</p>
<p>Staatsangehörigkeit (Staat): DE</p>	<p>Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE</p>	
<p>Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten: <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika <input checked="" type="checkbox"/> nur die Vereinigten Staaten von Amerika <input type="checkbox"/> die im Zusatzfeld angegebenen Staaten</p>		

Weitere Anmelder und/oder (weitere) Erfinder sind auf einem zusätzlichen Fortsetzungsblatt angegeben.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**Fortsetzung von Feld Nr. III WEITERE ANMELDER UND/ODER (WEITERE) ERFINDER***Wird keines der folgenden Felder benutzt, so ist dieses Blatt dem Antrag nicht beizufügen.*

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

Rauth, Holger  
Schulzestraße 35  
D-13187 Berlin (DE)

Diese Person ist:

 nur Anmelder Anmelder und Erfinder nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:  alle Bestimmungsstaaten  alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika  nur die Vereinigten Staaten von Amerika  die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

Diese Person ist:

 nur Anmelder Anmelder und Erfinder nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:  alle Bestimmungsstaaten  alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika  nur die Vereinigten Staaten von Amerika  die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

Diese Person ist:

 nur Anmelder Anmelder und Erfinder nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:  alle Bestimmungsstaaten  alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika  nur die Vereinigten Staaten von Amerika  die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

Diese Person ist:

 nur Anmelder Anmelder und Erfinder nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:  alle Bestimmungsstaaten  alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika  nur die Vereinigten Staaten von Amerika  die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

 Weitere Anmelder und/oder (weitere) Erfinder sind auf einem zusätzlichen Fortsetzungsblatt angegeben.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**Feld Nr. V BESTIMMUNG VON STAATEN**

Die folgenden Bestimmungen nach Regel 4.9 Absatz a werden hiermit vorgenommen (bitte die entsprechenden Kästchen ankreuzen; wenigstens ein Kästchen muß angekreuzt werden):

**Regionales Patent**

- AP ARIPO-Patent: GH Ghana, GM Gambia, KE Kenia, LS Lesotho, MW Malawi, SD Sudan, SZ Swasiland, UG Uganda, ZW Simbabwe und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Harare-Protokolls und des PCT ist
- EA Eurasisches Patent: AM Armenien, AZ Aserbaidschan, BY Belarus, KG Kirgisistan, KZ Kasachstan, MD Republik Moldau, RU Russische Föderation, TJ Tadschikistan, TM Turkmenistan und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Eurasischen Patentübereinkommens und des PCT ist
- EP Europäisches Patent: AT Österreich, BE Belgien, CH und LI Schweiz und Liechtenstein, DE Deutschland, DK Dänemark, ES Spanien, FI Finnland, FR Frankreich, GB Vereinigtes Königreich, GR Griechenland, IE Irland, IT Italien, LU Luxemburg, MC Monaco, NL Niederlande, PT Portugal, SE Schweden und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Europäischen Patentübereinkommens und des PCT ist
- OA OAPI-Patent: BF Burkina Faso, BJ Benin, CF Zentralafrikanische Republik, CG Kongo, CI Côte d'Ivoire, CM Kamerun, GA Gabun, GN Guinea, ML Mali, MR Mauretanien, NE Niger, SN Senegal, TD Tschad, TG Togo und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat der OAPI und des PCT ist (falls eine andere Schutzrechtsart oder ein sonstiges Verfahren gewünscht wird, bitte auf der gepunkteten Linie angeben) .....

**Nationales Patent (falls eine andere Schutzrechtsart oder ein sonstiges Verfahren gewünscht wird, bitte auf der gepunkteten Linie angeben):**

- |   |   |
|---|---|
| <input type="checkbox"/> AL Albanien .....                          | <input type="checkbox"/> LT Litauen .....   |
| <input type="checkbox"/> AM Armenien .....                          | <input type="checkbox"/> LU Luxemburg .....                                       |
| <input type="checkbox"/> AT Österreich .....                        | <input type="checkbox"/> LV Lettland .....  |
| <input type="checkbox"/> AU Australien .....                        | <input type="checkbox"/> MD Republik Moldau .....                                 |
| <input type="checkbox"/> AZ Aserbaidschan .....                     | <input type="checkbox"/> MG Madagaskar .....                                      |
| <input type="checkbox"/> BA Bosnien-Herzegowina .....               | <input type="checkbox"/> MK Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien ..... |
| <input type="checkbox"/> BB Barbados .....                          | <input type="checkbox"/> MN Mongolei .....  |
| <input type="checkbox"/> BG Bulgarien .....                         | <input type="checkbox"/> MW Malawi .....  |
| <input type="checkbox"/> BR Brasilien .....                         | <input type="checkbox"/> MX Mexiko .....  |
| <input type="checkbox"/> BY Belarus .....                           | <input type="checkbox"/> NO Norwegen .....  |
| <input type="checkbox"/> CA Kanada .....                            | <input type="checkbox"/> NZ Neuseeland .....                                      |
| <input type="checkbox"/> CH und LI Schweiz und Liechtenstein .....  | <input type="checkbox"/> PL Polen .....   |
| <input type="checkbox"/> CN China .....                             | <input type="checkbox"/> PT Portugal .....  |
| <input type="checkbox"/> CU Kuba .....                              | <input type="checkbox"/> RO Rumänien .....  |
| <input type="checkbox"/> CZ Tschechische Republik .....             | <input type="checkbox"/> RU Russische Föderation .....                            |
| <input type="checkbox"/> DE Deutschland .....                       | <input type="checkbox"/> SD Sudan .....   |
| <input type="checkbox"/> DK Dänemark .....                          | <input type="checkbox"/> SE Schweden .....  |
| <input type="checkbox"/> EE Estland .....                           | <input type="checkbox"/> SG Singapur .....  |
| <input type="checkbox"/> ES Spanien .....                           | <input type="checkbox"/> SI Slowenien .....                                       |
| <input type="checkbox"/> FI Finnland .....                          | <input type="checkbox"/> SK Slowakei .....  |
| <input type="checkbox"/> GB Vereinigtes Königreich .....            | <input type="checkbox"/> SL Sierra Leone .....                                    |
| <input type="checkbox"/> GE Georgien .....                          | <input type="checkbox"/> TJ Tadschikistan .....                                   |
| <input type="checkbox"/> GH Ghana .....                             | <input type="checkbox"/> TM Turkmenistan .....                                    |
| <input type="checkbox"/> GM Gambia .....                            | <input type="checkbox"/> TR Türkei .....  |
| <input type="checkbox"/> GW Guine-Bissau .....                      | <input type="checkbox"/> TT Trinidad und Tobago .....                             |
| <input type="checkbox"/> HU Ungarn .....                            | <input type="checkbox"/> UA Ukraine .....   |
| <input type="checkbox"/> ID Indonesien .....                        | <input type="checkbox"/> UG Uganda .....  |
| <input type="checkbox"/> IL Israel .....                            | <input checked="" type="checkbox"/> US Vereinigte Staaten von Amerika .....       |
| <input type="checkbox"/> IS Island .....                            | <input type="checkbox"/> UZ Usbekistan .....                                      |
| <input checked="" type="checkbox"/> JP Japan .....                  | <input type="checkbox"/> VN Vietnam .....   |
| <input type="checkbox"/> KE Kenia .....                             | <input type="checkbox"/> YU Jugoslawien .....                                     |
| <input type="checkbox"/> KG Kirgisistan .....                       | <input type="checkbox"/> ZW Simbabwe .....  |
| <input type="checkbox"/> KP Demokratische Volksrepublik Korea ..... |   |
| <input type="checkbox"/> KR Republik Korea .....                    |   |
| <input type="checkbox"/> KZ Kasachstan .....                        |   |
| <input type="checkbox"/> LC Saint Lucia .....                       |   |
| <input type="checkbox"/> LK Sri Lanka .....                         |   |
| <input type="checkbox"/> LR Liberia .....                           |   |
| <input type="checkbox"/> LS Lesotho .....                           |   |

Kästchen für die Bestimmung von Staaten (für die Zwecke eines nationalen Patents), die dem PCT nach der Veröffentlichung dieses Formblatts beigetreten sind:

- .....
- .....

Zusätzlich zu den oben genannten Bestimmungen nimmt der Anmelder nach Regel 4.9 Absatz b auch alle anderen nach dem PCT zulässigen Bestimmungen vor mit Ausnahme der Bestimmung von .....

Der Anmelder erklärt, daß diese zusätzlichen Bestimmungen unter dem Vorbehalt einer Bestätigung stehen und jede zusätzliche Bestimmung, die vor Ablauf von 15 Monaten ab dem Prioritätsdatum nicht bestätigt wurde, nach Ablauf dieser Frist als vom Anmelder zurückgenommen gilt. (Die Bestätigung einer Bestimmung erfolgt durch die Einreichung einer Mitteilung, in der diese Bestimmung angegeben wird, und die Zahlung der Bestimmungs- und der Bestätigungsgebühr. Die Bestätigung muß beim Anmeldeamt innerhalb der Frist von 15 Monaten eingehen.)

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

<b>Feld Nr. VI PRIORITÄTSANSPRUCH</b>		Weitere Prioritätsansprüche sind im Zusatzfeld angegeben. <input type="checkbox"/>	
Die Priorität der folgenden früheren Anmeldung(en) wird hiermit beansprucht:			
Staat (Anmelde- oder Bestimmungsstaat der Anmeldung)	Anmeldeatum (Tag/Monat/Jahr)	Aktenzeichen	Anmeldeamt (nur bei regionaler oder internationaler Anmeldung)
(1) DE	27.05.1998	198 23 719.7-52	
(2)			
(3)			
<p>Dieses Kästchen ankreuzen, wenn die beglaubigte Kopie der früheren Anmeldung von dem Amt ausgestellt werden soll, das für die Zwecke dieser internationalen Anmeldung Anmeldeamt ist (eine Gebühr kann verlangt werden):</p> <input type="checkbox"/> Das Anmeldeamt wird hiermit ersucht, eine beglaubigte Abschrift der oben in Zeile(n) _____ bezeichneten früheren Anmeldung(en) zu erstellen und dem Internationalen Büro zu übermitteln.			
<b>Feld Nr. VII INTERNATIONALE RECHERCHENBEHÖRDE</b>			
<p><b>Wahl der Internationalen Recherchenbehörde (ISA)</b> (Sind zwei oder mehr Internationale Recherchenbehörden für die internationale Recherche zuständig, ist der Name der Behörde anzugeben, die die internationale Recherche durchführen soll; Zwei-Buchstaben-Code genügt): ISA / _____</p> <p><b>Frühere Recherche</b> Auszufüllen, wenn eine Recherche (internationale Recherche, Recherche internationaler Art oder sonstige Recherche) bereits bei der internationalen Recherchenbehörde beantragt oder von ihr durchgeführt worden ist und diese Behörde nun ersucht wird, die internationale Recherche soweit wie möglich auf die Ergebnisse einer solchen früheren Recherche zu stützen. Die Recherche oder der Recherchenantrag ist durch Angabe der betreffenden Anmeldung (bzw. deren Übersetzung) oder des Recherchenantrags zu bezeichnen.</p>			
Staat (oder regionales Amt):		Datum (Tag/Monat/Jahr) :	Aktenzeichen:
<b>Feld Nr. VIII KONTROLLISTE</b>			
Diese internationale Anmeldung umfaßt:		Dieser internationale Anmeldung liegen die nachstehend angekreuzten Unterlagen bei:	
1. Antrag : 5	Blätter	1. <input checked="" type="checkbox"/> Unterzeichnete gesonderte Vollmacht	5. <input type="checkbox"/> Blatt für die Gebührenberechnung
2. Beschreibung : 19	Blätter	2. <input type="checkbox"/> Kopie der allgemeinen Vollmacht	6. <input type="checkbox"/> Gesonderte Angaben zu hinterlegten Mikroorganismen
3. Ansprüche : 3	Blätter	3. <input type="checkbox"/> Begründung für das Fehlen der Unterschrift	7. <input type="checkbox"/> Sequenzprotokolle für Nucleotide und/oder Aminosäuren (Diskette)
4. Zusammenfassung : 1	Blätter	4. <input checked="" type="checkbox"/> Prioritätsbeleg(e) (durch die Zeilennummer von Feld Nr. VI kennzeichnen):	8. <input type="checkbox"/> Sonstige (einzelne aufführen):
5. Zeichnungen : 2	Blätter		
Insgesamt : 30	Blätter		
Abbildung Nr. 1 der Zeichnungen (falls vorhanden) soll mit der Zusammenfassung veröffentlicht werden.			
<b>Feld Nr. IX UNTERSCHRIFT DES ANMELDERS ODER DES ANWALTS</b>			
<p>Der Name jeder unterzeichnenden Person ist neben der Unterschrift zu wiederholen, und es ist anzugeben, sofern sich dies nicht eindeutig aus dem Antrag ergibt, in welcher Eigenschaft die Person unterzeichnet.</p> <p>Hertz, Oliver Europäischer Patentanwalt</p>			

Vom Anmeldeamt auszufüllen		
1. Datum des tatsächlichen Eingangs dieser internationalen Anmeldung:		2. Zeichnungen <input type="checkbox"/> eingegangen: <input type="checkbox"/> nicht eingegangen:
3. Geändertes Eingangsdatum aufgrund nachträglich, jedoch fristgerecht eingegangener Unterlagen oder Zeichnungen zur Vervollständigung dieser internationalen Anmeldung:		
4. Datum des fristgerechten Eingangs der angeforderten Richtigstellungen nach Artikel 11(2) PCT:		5. Vom Anmelder benannte Internationale Recherchenbehörde: ISA /
5. Vom Anmelder benannte Internationale Recherchenbehörde: ISA /		
		6. <input type="checkbox"/> Übermittlung des Recherchenexemplars bis zur Zahlung der Recherchengebühr aufgeschoben

Vom Internationalen Büro auszufüllen	
Datum des Eingangs des Aktenexemplars beim Internationalen Büro:	

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

T 4

# VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

## PCT

### INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts <b>14665/PCT Ri</b>	<b>WEITERES VORGEHEN</b> <small>siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsbericht (Formblatt PCT/IPEA/416)</small>	
Internationales Aktenzeichen <b>PCT/EP99/03667</b>	Internationales Anmeldedatum ( <i>Tag/Monat/Jahr</i> ) <b>27/05/1999</b>	Prioritätsdatum ( <i>Tag/Monat/Tag</i> ) <b>27/05/1998</b>
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK <b>G01N1/00</b>		
Anmelder <b>MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSC</b>		
<p>1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationale vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.</p> <p>2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 6 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor der Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).</p> <p>Diese Anlagen umfassen insgesamt 4 Blätter.</p>		
<p>3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:</p> <p>I <input checked="" type="checkbox"/> Grundlage des Berichts II <input type="checkbox"/> Priorität III <input type="checkbox"/> Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erforderliche Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit IV <input type="checkbox"/> Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung V <input checked="" type="checkbox"/> Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erforderliche Tätigkeit und der gewerbliche Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung VI <input type="checkbox"/> Bestimmte angeführte Unterlagen VII <input type="checkbox"/> Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung VIII <input checked="" type="checkbox"/> Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung</p>		

Datum der Einreichung des Antrags <b>24/11/1999</b>	Datum der Fertigstellung dieses Berichts <b>13.07.2000</b>
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:   Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter  <b>Loades, M</b> Tel. Nr. +49 89 2399 2184



**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

# INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP99/03667

## I. Grundlag des Berichts

1. Dieser Bericht wurde erstellt auf der Grundlage (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigefügt, weil sie keine Änderungen enthalten.*):

### Beschreibung, Seiten:

1,3,5-19	ursprüngliche Fassung
2,4,4a	eingegangen am 09/05/2000 mit Schreiben vom 08/05/2000

### Patentansprüche, Nr.:

2-10,12-19	ursprüngliche Fassung
1,11	eingegangen am 09/05/2000 mit Schreiben vom 08/05/2000

### Zeichnungen, Blätter:

1/2,2/2	ursprüngliche Fassung
---------	-----------------------

2. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- Beschreibung, Seiten:
- Ansprüche, Nr.:
- Zeichnungen, Blatt:

3.  Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)):

4. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER  
PRÜFUNGSBERICHT**

Internationales Aktenzeichen PCT/EP99/03667

**V. B gründet Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfindungsrätschenden Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung**

**1. Feststellung**

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche 1-19
	Nein: Ansprüche
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche
	Nein: Ansprüche 1-19
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche 1-19
	Nein: Ansprüche

**2. Unterlagen und Erklärungen**

**siehe Beiblatt**

**VIII. Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung**

Zur Klarheit der Patentansprüche, der Beschreibung und der Zeichnungen oder zu der Frage, ob die Ansprüche in vollem Umfang durch die Beschreibung gestützt werden, ist folgendes zu bemerken:

**siehe Beiblatt**

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**Zu Punkt V**

**Begründete Feststellung nach Regel 66.2(a)(ii) hinsichtlich der Neuheit, der erforderlichen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung**

1. In diesem Bericht sind folgende Dokumente genannt:  
D1: WO-A- 97 31105 (Recherchenbericht)  
D2: WO-A- 97 44134 ( „ „ )  
D3: US-A- 5498550 (auf S.3 der Beschreibung zitiert)
2. Neuheit und erforderliche Tätigkeit

**Anspruch 1**

D1 betrifft ein Verfahren zur Behandlung von Mikroorganismen usw., bei dem das Material auf magnetischen Partikeln gebunden wird. Figuren c, d, e und f zeigen die Verwendung eines festen Trägermaterials mit einer bindungsaktiven Oberfläche (magnetische Partikel in Zeile 7 der Zusammenfassung). Dieses Material wird vom Magneten M bewegt. Bezugssymbol 2 zeigt eine Pipette, die zur Tropfenabgabe ausgelegt ist.

Anspruch 1 erwähnt vier Schritte: i. Anordnung..., ii. Aufnahme..., iii. Bewegung..., und iv. Behandlung und/oder Sammlung. In D1 scheinen alle diese Schritte vorhanden zu sein. Die Schritte i und ii laufen in D1 gleichzeitig ab, weil in Schritt c von D1 die Probenflüssigkeit zusammen mit magnetischen Partikeln in die Pipette aufgesaugt wird. Bewegung des Trägermaterials (Schritt iii) tritt im Verfahren von D1 ebenfalls aus, weil die Partikel sich in Richtung des Magneten M bewegen, wobei ebenfalls ein weiterer Bindungsvorgang stattfindet. Gleichzeitig sammeln sich alle Partikel mit der Substanz auf der Innenwand der Pipette.

Daher scheint nur das Merkmal, daß die Einrichtung zur Mikrotropfenabgabe ausgelegt ist, nicht aus D1 bekannt zu sein.

Die mit der vorliegenden Erfindung zu lösende Aufgabe kann darin gesehen werden, daß die Dosiervorrichtung miniaturisiert werden sollte, um sehr kleine Proben oder Flüssigkeitsmengen zu dosieren.

Jedoch sind Mikropipetten allgemein bekannt - siehe z.B. D2 (siehe S.2, Z.11) bzw. D3 (Spalte 23, Z.8). Der Fachmann würde eine solche Pipette an dem unteren Ende der

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

Pipette gemäß D1 einbauen oder die Pipette von D1 miniaturisieren, um sehr kleine Mengen dosieren zu können, was bei den in D1 durchgeführten Analysen notwendig ist.

Die in Anspruch 1 der vorliegenden Anmeldung vorgeschlagene Lösung kann aus obigen Gründen nicht als erfinderisch betrachtet werden (Artikel 33(3) PCT).

D3 beschreibt eine Vorrichtung bzw. ein Verfahren zur Behandlung von Mikropartikeln. Wie in Beispiel 7 (Figuren 10(a) bis 10(e)) beschrieben wird, beinhaltet die Dosiereinrichtung 33 (Tropfenabgabe nach unten (siehe Figuren 10(c) und 10(d)) ein festes Trägermaterial (Draht 31), das oszilliert, um die Bindung auf der Oberfläche zu fördern (siehe Spalte 23, Zeilen 31-35 bzw. 40-43).

Die Schritte i bis iv von Anspruch 1 sind in D3 ebenfalls offenbart - siehe die Figur 10a (Schritt i), Figur 10c (Schritt ii), Spalte 23, Zeilen 31-43 (Schritte iii und iv).

Daher scheint nur das Merkmal, daß die Einrichtung zur Mikrotropfenabgabe ausgelegt ist, nicht aus D3 bekannt zu sein.

Der Gegenstand des Anspruchs scheint somit gegenüber D3 aus ähnlichen Gründen wie oben nicht erfinderisch zu sein.

(D2 beschreibt eine Mikrodosiereinrichtung, die jedoch kein vergleichbares festes Trägermaterial gemäß der Definition von Anspruch 1 umfaßt).

#### **Anspruch 11**

Aus ähnlichen Gründen ist die Vorrichtung gemäß Anspruch 11 ebenfalls nicht erfinderisch.

Die abhängigen Ansprüche enthalten offenbar keine zusätzlichen Merkmale, die eine erfinderische Tätigkeit beinhalten, da sie sich entweder aus dem Gegenstand des Anspruchs 1 ergeben oder sich auf übliche Konstruktionsverfahren, die der Fachmann den Umständen entsprechend anwenden würde, beziehen.

In Bezug auf die Ansprüche 10,19: D3 erwähnt eine Probe von etwa 1ml (siehe Spalte 27, Z.52). Die bloße Miniaturisierung der Probenbehälter auf weniger als 0.5ml, wobei die grundsätzlichen Techniken unverändert bleiben, ist nicht als erfinderisch zu betrachten.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**Zu Punkt VIII**

**Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung**

**Klarheit**

- a. Die Begriffe "Mikrodosiereinrichtung" und "Mikrotropfenabgabe" in den unabhängigen Ansprüchen sind vage, weil keine Dimensionen der verwendeten Geräte bzw. Tropfen bzw. Dosierungen angegeben sind.  
Weiterhin scheinen die Gegenstände der Ansprüche 1 bzw. 11 nicht so definiert zu sein, daß die auf S. 1, Z. 9-14 bzw. auf S. 4a, Z. 5-9 angegebene Aufgabe gelöst werden kann.
- b. Der Anspruch 1 gibt den Eindruck, daß die Schritte in der angegebene Reihenfolge ablaufen sollen, wohingegen gemäß Beschreibung Seiten 9-10 die Schritte in einer anderen Reihenfolge ausgeführt werden.
- c. Der letzte Schritt von Anspruch 1 hat kein Gegenstück in der Beschreibung.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

M 09.06.00

14665/PCT Hz/ap

Neue Patentansprüche 1, 11

1. Verfahren zum Prozessieren von mindestens einer Substanz im Reservoir (3) einer Mikrodosiereinrichtung (1), die zur Mikrotropfenabgabe ausgelegt ist, **gekennzeichnet durch** die Schritte:

- Anordnung eines festen Trägermaterials als Festphase mit bindungsaktiver Oberfläche im Reservoir (3),
- Aufnahme einer Lösung oder Suspension der Substanz in das Reservoir (3),
- Bewegung des Trägermaterials im Reservoir (3), wobei eine Bindung der Substanz auf der Oberfläche des Trägermaterials erfolgt, und
- Behandlung und/oder Sammlung der Substanz im Reservoir (3).

11. Vorrichtung zum Prozessieren von mindestens einer Substanz, mit einer Mikrodosiereinrichtung (1), die ein Reservoir (3) aufweist, in dem ein festes Trägermaterial (7, 9) mit bindungsaktiver Oberfläche beweglich angeordnet ist, **dadurch gekennzeichnet, dass** außerhalb des Reservoirs (3) eine Antriebseinrichtung zur Halterung und Bewegung des Trägermaterials im Reservoir (3) vorgesehen ist und die Dosiereinrichtung (1) zur Mikrotropfenabgabe ausgelegt ist.

GEÄNDERTES BLATT

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

2  
09.05.00

Beim Nachweis der interessierenden Substanzen erreichen massenspektrometrische Verfahren heute Nachweisempfindlichkeiten im Attomol- bis unteren Femtomol-Bereich. Diese Empfindlichkeit kann in der Praxis effektiv nur dann genutzt werden, wenn der Analyt in möglichst reiner Form in einem nur wenige Nanoliter umfassenden Volumen vorliegt. Auch hierfür besteht ein Interesse an einer Aufreinigung oder Anreicherung von Substanzproben.

Aus der chemischen und biochemischen Analytik ist allgemein bekannt, zur Probenanreicherung in die jeweilige Lösung oder Suspension Festphasen einzubringen, an denen die gewünschten Moleküle vorübergehend gebunden werden. Bei geeigneten magnetischen Materialeigenschaften können die Festphasen unter Wirkung magnetischer Feldkräfte manipuliert werden (magnetische Aufreinigung).

Aus US-A-5 186 827 ist eine magnetische Trenneinrichtung zur Trennung magnetischer Teilchen von einem nicht-magnetischen Testmedium bekannt. Die magnetischen Teilchen sind kleine Partikel, auf deren Oberflächen die interessierenden Substanzen gebunden sind, oder beispielsweise biologische Zellen, in die magnetische Substanzen inkorporiert sind. Mit einer Vielzahl von Magneten wird im Testmedium ein magnetischer Feldgradient derart aufgebaut, daß die magnetischen Teilchen an die Gefäßwandung bewegt und dort gesammelt werden. Die aus US-A-5 186 827 bekannte magnetische Trenneinrichtung besitzt die folgenden Nachteile.

Die Trenneinrichtung besitzt einen komplexen Aufbau. Zur Ausbildung der Feldgradienten müssen mindestens vier Magneten vorhanden sein, die in vorbestimmter Weise angeordnet sind und die Verwendung bestimmter Behältnisse für das Testmedium erfordern. Die für charakteristische Behältnis-Dimensionen im

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

09.05.00

tauchen eines stiftförmigen Permanentmagneten eingerichtet ist. Der Nachteil dieser Technik besteht darin, daß die Küvetten kein Dispersieren des Testmediums erlauben und damit das Testmedium nur schwer handhabbar ist.

Weitere Systeme zur Manipulierung magnetischer oder magnetisierbarer Partikel sind aus WO 86/06493, WO 89/01161, US-A-5 147 529 und US-A-3 985 649 bekannt. All diese Systeme erlauben jedoch keine Medienabgabe nach Art eines Dispensers. Diese Dispensierfunktion ist jedoch gerade in Zusammenhang mit den eingangs genannten Aufgaben in der Biochemie, Gentechnik und Medizin von entscheidender Bedeutung.

Aus WO 97/31105 ist ein Verfahren zur Behandlung von Biopolymeren, Mikroorganismen oder Materialien mit mehreren Arten magnetischer Partikel bekannt. Die zu behandelnden Materialien werden in einem Vorratsgefäß mit den magnetischen Partikeln versetzt und an deren Oberflächen gebunden. Mit einer Pipette werden aus dem Vorratsgefäß Proben entnommen. Unter der Wirkung eines Magnetfeldes können magnetische Partikel mit gebundenen Materialien im Inneren der Pipette festgehalten werden. Aus WO 97/44134 ist eine Tropfenschusseinrichtung bekannt, mit der mikroskopisch kleine Flüssigkeitstropfen auf Substrate übertragen werden können.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

4a

109.05.00

Gegenwärtig ist keine Aufreinigungs- oder Anreicherungstechnik bekannt, die zur Prozessierung (z. B. Handhabung, Sammlung, Reinigung oder dergl.) kleinster Substanzmengen (bis zum nl-Bereich und darunter) einsetzbar ist.

Es ist die Aufgabe der Erfindung, ein Verfahren zum Prozessieren kleinsten Substanzmengen anzugeben, das insbesondere mit dem Einsatz herkömmlicher Werkzeuge zur Probenhandhabung im nl-Bereich kompatibel ist und einen möglichst breiten Einsatzbereich besitzt. Das Verfahren soll einfach in die üblichen Methoden zur Probenhandhabung, zum Probennachweis und zur Probenbearbeitung aus der Biochemie, Gentechnik und Medizin integrierbar sein. Die Aufgabe der Erfindung besteht auch darin, eine Vorrichtung zur Implementierung eines derartigen Verfahrens anzugeben.

Die Aufgabe der Erfindung wird durch ein Verfahren oder Vorrichtungen gemäß den Patentansprüchen 1 bzw. 11 gelöst. Bevorzugte Ausführungsformen der Erfindung ergeben sich aus den abhängigen Ansprüchen.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**